

Université du Québec à Rimouski

**EFFETS DE BAS PH / PCO_2 ÉLEVÉES SUR LES
TRAITS D'HISTOIRE DE VIE ET LA
PHYSIOLOGIE DU PREMIER STADE DE
RECRUTEMENT JUVÉNILE BENTHIQUE DU
HOMARD AMÉRICAIN, *HOMARUS AMERICANUS***

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en gestion de la faune et de ses habitats

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

© Kayla Menu-Courey

Novembre 2017

COMPOSITION DU JURY

Pierre Blier (président du jury) : Biologie génétique et évolutive, PhD., Université du Québec à Rimouski

Piero Calosi (directeur de recherche) : Biologie marine éco-évolutive et physiologique, PhD., Université du Québec à Rimouski

Denis Chabot (membre externe) : Chercheur gouvernemental, PhD., Pêches et Océan Canada - Institut Maurice Lamontagne

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

REMERCIEMENTS

A quote from my most recent favourite book reminded me that « ... the things we remember are what we hold on to, and what we hold on to becomes the story of our lives. We only get one story. And I am determined to make mine a good one ». As difficult as it sometimes felt to persevere through to the end, the moments I cherish the most are in the beautiful places I had the opportunity to work in, the life-long friendships I made along the way, and the love and laughter that kept me swimming.

I am so grateful for all that I've learned throughout my journey from my mentors, professors, colleagues, and classmates. Thank you to my supervisor, for always pushing me to be the best scientist I can be, to strive for excellence, and for teaching me how to thrive in the research world. Thank you Fanny Noisette for your dedication, knowledge, and wisdom, which were critical tools for my success in this project and my writing. Thank you to the SABs and BIO team for all your technical support and expertise to complete the project. Thank you to all those who helped me in the lab, making the experiment a success: Sarah P., Johnny D., Jocelyn L., Veronique D., and Steve N. And thank you to those who helped tremendously with the advancement of my statistical analyses: P. Legagneux, A. Caron, and Fanny Noisette. And of course, a big thanks to the funding groups that supported this project and made it possible: MEOPAR, NSERC and Homarus Inc.

Thank you to my unbelievable crew in Saint-Andrews-by-the-Sea, those from UQAR, and my family and friends for continuing to make me laugh, you guys rock. Thank you to my parents, my best friend, and my partner for the unfailing support, love and encouragement that always kept me strong and had me dreaming big again.

Thank you.

RÉSUMÉ

Un cycle de vie complexe est un caractère commun chez la majorité des invertébrés marins, caractérisée par des mues énergétiquement coûteuses, permettant le développement de la phase pélagique larvaire à la phase adulte benthique. Les conséquences du pH bas/ la $p\text{CO}_2$ élevée en milieu marin sur le cycle de vie des crustacés sont peu connues, particulièrement pendant la phase post-larvaire qui précède la fixation benthique du recrutement juvénile. Chez les espèces d'intérêt, comme le homard Américain, *Homarus americanus*, il est important pour les industries de pêches de comprendre la sensibilité spécifique aux premiers stades de vie du développement dans un contexte de changements globaux. L'acidification des océans (AO) est la réduction progressive du pH marin causé par l'absorption de CO_2 anthropique. D'autres incitateurs de l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ sont les fluctuations côtières naturelles et des fuites de systèmes de capture et de stockage de CO_2 (CSC). Sachant que la $p\text{CO}_2$ élevée peut affecter négativement les crustacés marins, cette étude a pour objectif d'identifier les impacts d'une augmentation de la $p\text{CO}_2$ sur les traits d'histoire de vie et la physiologie de la première phase de recrutement juvénile (stade V) du homard Américain. Les juvéniles ont été soumis à sept différent pH (entre 8,1 et 7,12), représentatifs des conditions prédites d'AO, des fuites de CSC, et de fluctuations naturelles. La survie, la durée du développement, les taux alimentaire et de respiration de tous les individus ont été examinés. Les résultats démontrent une réduction de la survie et du développement, et une variabilité du taux de l'alimentation lors d'une réduction du pH. Plus en détail, nous observons une demande énergétique qui augmente afin de maintenir l'homéostasie interne. Malgré une hausse de l'aérobie mitochondriale par mitohormésis, cette demande énergétique accrue n'est pas comblé parce que les mitochondries individuelles semblent être endommagées par ce qui pourrait être le stress oxydatif. Ceci contraint la capacité de continuer à travers les stades consécutifs de développement. Nos résultats démontrent les effets négatifs potentiels que pourrait avoir la $p\text{CO}_2$ élevée sur les post-larves de homard, préfigurant une réduction du succès de recrutement benthique des stades V, ce qui pourrait avoir des incidences sur le futur de l'économie et les communautés de pêches du homard.

Mots clés: Acidification des Océans, capture et stockage de carbone, fuites de CO_2 , pH bas, recrutement juvénile, épuisement, capacité aérobique, régulation acido-basique, fonction mitochondriale, pêche du homard américain

ABSTRACT

Complex life cycles are most common in marine benthic invertebrates. This developmental character includes frequent, energetically costly moults in order to progress discretely from the pelagic larval form to the benthic juvenile form. Low pH impacts on the resilience of crustaceans having a complex life cycle are virtually unknown, particularly during the settling post-larval phase that precedes benthic juvenile recruitment. For such species of economic importance, like the American lobster, *Homarus americanus*, it is important to understand and identify stage-specific vulnerabilities during early development in order to better understand recruitment variability and distribution in the context of global change for the lobster fisheries that drive a major part of coastal economies in Canada and the United States. Ocean acidification (OA) is the progressive decrease of oceanic pH / increased $p\text{CO}_2$ caused by the uptake of excess atmospheric CO_2 . Other elevated $p\text{CO}_2$ drivers are natural and anthropogenic coastal fluctuations and leakages from carbon capture storage systems (CCS). Knowing that such drivers of elevated $p\text{CO}_2$ can negatively affect marine crustaceans, this study aims to identify the impacts of elevated seawater $p\text{CO}_2$ on the life history and physiology of the first juvenile recruits (V) of the American lobster. Juvenile lobsters were held in one of seven pH levels (between 8.1 and 7.12), representative of predicted end-century ocean conditions and potential low pH extremes. The survival, development rates, feeding rates, respiration rates of all individuals, as well as the carapace mineral content and mitochondrial enzyme function for selected individuals were recorded. As $p\text{CO}_2$ increases, results suggest an increase in mortality and developmental rates and variable feeding responses. These patterns can apparently be explained by high $p\text{CO}_2$ impacts on physiological traits. More specifically, we suggest that energetic demand increases in order to maintain internal homeostasis. However, this demand is not fully met despite increased aerobic mitochondrial capacity through mitohormesis, because individual mitochondria may be damaged by oxidative stress. This lack in energy reserves reduces the capacity to persevere through successive stages in development. Our results point to potential negative effects on the species recruits with elevated seawater $p\text{CO}_2$, foreshadowing reduced recruitment success of stage V juveniles under future low pH scenarios, having potential economic and social repercussions on coastal lobster fisheries.

Key words: Ocean acidification, Carbon Capture and Storage, CO_2 leakages, low pH, juvenile recruitment, exhaustion, acid-base regulation, aerobic capacity, mitochondrial function, lobster fisheries

Table des Matières

EFFETS DE BAS PH / PCO_2 ÉLEVÉES SUR LES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE ET LA PHYSIOLOGIE DU PREMIER STADE DE RECRUTEMENT JUVÉNILE BENTHIQUE DU HOMARD AMÉRICAIN, <i>HOMARUS AMERICANUS</i>	1
COMPOSITION DU JURY	2
REMERCIEMENTS	4
RÉSUMÉ	5
ABSTRACT	6
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES FIGURES	10
LISTE DES SCHEMAS ET PHOTOS	12
LISTE DES CARTES	13
INTRODUCTION	14
CYCLE DE VIE COMPLEXE CHEZ LES INVERTEBRES	14
L'ACIDIFICATION DES OCEANS	16
FUITES DE SYSTEMES CAPTURE ET STOCKAGE DE CARBONNE ET AUTRES VALEURS EXTREMES DE BAS PH	19
SENSIBILITE AU PH BAS LORS DES DIFFÉRENTS STADES DE DEVELOPPEMENT	20
OBJECTIF PRINCIPAL	22
ORGANISME D'ETUDE : LE HOMARD AMÉRICAIN	23
CHAPITRE 1	23
LA SENSIBILITE DES POST-LARVES AUX NIVEAUX DE PCO_2 ÉLEVÉES AUGMENTE LA DEMANDE ÉNERGÉTIQUE ET RÉDUIT LA SURVIE DES RECRUES JUVÉNILES BENTHIQUES DU HOMARD AMÉRICAIN, <i>HOMARUS AMERICANUS</i>	23
POST-LARVAL SENSITIVITY TO ELEVATED SEAWATER PCO_2 INCREASES ENERGETIC DEMAND AND REDUCES SURVIVAL OF BENTHIC JUVENILE RECRUITS OF THE AMERICAN LOBSTER, <i>HOMARUS AMERICANUS</i>	23
1.1 INTRODUCTION	25
1.2 MATERIALS AND METHODS	28
1.2.1 SPECIMEN COLLECTION, TRANSPORT AND MAINTENANCE	28
1.2.2 EXPERIMENTAL DESIGN	29
1.2.3 PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISATION OF SEAWATER	30
1.2.4 DETERMINATION OF SURVIVORSHIP, DEFORMITIES, AND DEVELOPMENT PERIODS	33
1.2.5 DETERMINATION OF FEEDING RATES AND ROUTINE METABOLIC RATES	33
1.2.6 DETERMINATION OF GROWTH AND MORPHOMETRICS	35
1.2.7 DETERMINATION OF CARAPACE MINERAL CONTENT	36
1.2.8 DETERMINATION OF METABOLIC CAPACITY	37
1.2.9 STATISTICAL ANALYSES	38
1.3 RESULTS	39
1.3.1 SURVIVORSHIP	40

1.3.2	DEVELOPMENTAL PERIODS.....	41
1.3.3	FEEDING RATES.....	42
1.3.4	RESTING METABOLIC RATES	42
1.3.5	MORPHOMETRICS.....	43
1.3.6	CARAPACE MINERAL CONTENT	46
1.3.7	ENZYMATIC ACTIVITIES (ETS, LDH, ETS:LDH)	47
1.4	DISCUSSION	50
1.4.1	IMPACT OF INCREASING SEAWATER PCO_2 LEVEL ON LHT.....	50
1.4.2	IMPACT OF INCREASING SEAWATER PCO_2 ON METABOLISM AND FEEDING RATES.....	52
1.4.3	CARAPACE MINERAL CONTENT IMPACTS UNDER INCREASING PCO_2 CONDITION.....	57
1.4.4	CONCLUSION.....	58
DISCUSSION.....		60
IMPLICATIONS DE L'AUGMENTATION DE LA pCO_2 / DIMINUTION DU PH SUR LES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE ET LA COMPOSITION MINERALE DE LA CARAPACE.....		60
IMPLICATION DE L'AUGMENTATION DE LA pCO_2 / DIMINUTION DU PH SUR LE METABOLISME ET LA CONSOMMATION DE NOURRITURE		63
IMPLICATIONS POTENTIELLES DE L'AUGMENTATION DE LA pCO_2 / DIMINUTION DU PH SUR LES COMMUNAUTÉS DE PECHE		68
CONCLUSION GÉNÉRALE		71
BIBLIOGRAPHIE		73

LISTE DES TABLEAUX

Table 1. Mean (\pm SE) measured and calculated (indicated with an asterix *) seawater physical chemistry in control and experimental seawater conditions over the course of the experiment. The number of daily measurements: n, temperature: T ($^{\circ}$ C), salinity: sal, dissolved oxygen (%): DO, pH in the total scale: pH_T, CO₂ partial pressure: pCO₂ (μ atm), bicarbonate ion concentration: HCO₃⁻ (μ mol kg⁻¹), carbonate ion concentration: CO₃⁻ (μ mol kg⁻¹), total dissolved inorganic carbon: DIC (μ mol kg⁻¹), total alkalinity: TA (μ mol kg⁻¹), saturation state of seawater with respect to aragonite: Ω_{ara} , saturation state of seawater with respect to calcite: Ω_{cal} .

Table 2. Summary table of mean (\pm SE) probability of survival (Survival, %), intermolt period (IP, d), feeding rate (FR, mg g⁻¹ h⁻¹), resting metabolic rate (RMR, μ mol h⁻¹), abdomen length (A, mm), cephalothorax length (B, mm), telson length (C, mm), cephalothorax-abdomen length ratio (A:B), carapace [Mg²⁺] (ng mg⁻¹), and mitochondrial function (ETS:LDH) at stage V under seven pCO₂ levels (μ atm) for stage V juvenile lobsters (*H. americanus*)

LISTE DES FIGURES

Fig. 6. Predicted effects of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (400, 600, 800, 1000, 1200, 2000, 3000 μatm) on individual lobster, *H. americanus*, survivorship from stage IV to stage V (\pm SE). The black dots represent the mean calculated values for the probability of survival with \pm SE error bars. The linear model prediction of survival is shown by the blue line (Survival prediction (%) $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. by the dotted black lines.

Fig. 7. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels on the intermoult period (d) of individual lobsters from stage IV to stage V. The black dots represent intermoult period (IP) recorded across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction of IP is shown by the solid line (IP prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 8. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the feeding rates ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$) of stage V lobster juveniles. The black dots represent individual FR measured across the $p\text{CO}_2$ gradient investigated. The 2nd order polynomial model prediction of FR is shown by the blue line (FR prediction = $p\text{CO}_2$ (μatm) + WBM (wet body mass, g)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 9. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the abdomen (A), cephalothorax (B), and telson (C) length (mm) stage V lobster juveniles. The black dots represent the morphometric trait lengths (mm) for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction of the morphometric traits are shown by the blue line (Length predictions = $p\text{CO}_2$ (μatm) + total length (mm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 10. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the cephalothorax–abdomen ratio for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the cephalothorax–abdomen ratio for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction of the ratio is shown by the blue line (Ratio prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm) + total length (mm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 11. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the $[\text{Mg}^{2+}]$ (ng mg^{-1}) in stage V lobster juvenile cephalothorax carapace. The black dots represent $[\text{Mg}^{2+}]$ of each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for $[\text{Mg}^{2+}]$ is shown by the blue line (log $[\text{Mg}]$ prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm) + WBM (wet body mass of stage V, g)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 12. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the ETS enzyme activity (U mg protein^{-1}) for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the ETS activity for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for the measure of cellular energy consumption is shown by the blue line (ETS prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 13. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the LDH enzyme activity (U mg protein^{-1}) for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the LDH activity for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for the anaerobic energetic metabolism is shown by the blue line (LDH prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Fig. 14. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the ETS-LDH ratio for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the ETS-LDH ratio for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for the mitochondrial/glycolytic enzyme ratio is shown by the blue line (ETS:LDH prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

LISTE DES SCHEMAS ET PHOTOS

Figure 1. Schématisation du cycle de vie complexe du homard américain (*Homarus americanus*) montrant chaque phase de développement de l'émission des larves dans la colonne d'eau jusqu'à la reproduction adulte (Source : dessiné par K. Lavalli par rapport au dessin original dans Harding, 1992).

Figure 2. Représentation schématique de la chimie des carbonates dans le système marin. Le CO_2 atmosphérique est absorbé par l'océan pour maintenir un équilibre entre la $p\text{CO}_2$ atmosphérique et océanique. La chimie des carbonates comprend trois espèces principales : le dioxyde de carbone dissous (CO_2), les ions bicarbonate (HCO_3^-) et les ions carbonate (CO_3^{2-}) qui se dissocient et s'associent avec des ions de H^+ dans l'eau. (Source : « Introduction to OA : OCB-OA », Woods Hole Oceanographic Institution)

Figure 3. Schématisation de Bjerrum de la chimie des carbonates qui montre la relation entre pH ambiant et la proportion de chaque espèce de carbonate : $[\text{CO}_2]$ en bleu, $[\text{HCO}_3^-]$ en rouge, et de $[\text{CO}_3^{2-}]$ en vert. Le pH marin est contrôlé par les proportions relatives des espèces carboniques. La direction du changement des proportions relatives des espèces de carbonates pendant le phénomène d'acidification des océans est montrée par la flèche noire (Source : Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001).

Figure 4. Modèle schématique de la tolérance physiologique du crabe araignée par stade de développement face à des températures et niveaux de $p\text{CO}_2$ élevés (Source : Walther *et al.*, 2010)

Figure 13. Pêcheurs de homard dans les maritimes Canadien qui préparent leurs matériels pour la saison (Source : « Report of the Maritime Lobster Panel », Thériault *et al.*, 2013)

LISTE DES CARTES

Figure 5. Distribution du homard américain (*Homarus americanus*) basée sur les zones de pêche actuelles et des relevés au chalut de fond effectués par le MPO. (source: Coffen-Smout *et al.*, 2013)

INTRODUCTION

CYCLE DE VIE COMPLEXE CHEZ LES INVERTEBRES

Un cycle de vie complexe comprend au moins deux stades de vie qui sont morphologiquement distincts et qui sont chacun associés à un milieu de vie précis (Moran, 1994; Stoks et Córdoba-Aguilar, 2012). Ce mode de développement est commun chez la majorité des invertébrés marins (Jablonski et Lutz, 1983). Les cycles de vie complexes englobent souvent une première phase pélagique, durant laquelle l'espèce flotte ou nage dans la colonne d'eau, suivie d'une deuxième phase benthique durant laquelle l'espèce vit principalement sur le fond marin. Ce type de développement complexe s'est très probablement développé afin de diminuer la variété de pressions environnementales au cours de différents stades de développement (Bennett et Hiebert, 2009) et d'améliorer les performances de dispersion chez les espèces benthiques (Penchenik, 1999; Przeslawski *et al.*, 2014).

Les traits morphologiques, physiologiques ou d'histoire de vie spécifiques de chaque stade leur permet d'être le plus performant possible dans l'environnement propre à leur stade de vie: soit la phase larvaire, métamorphique, juvénile, ou adulte (Stoks et Córdoba-Aguilar, 2012). Chaque stade successif se distingue par la morphologie, la physiologie, et le comportement. Par exemple, le homard Américain, *Homarus americanus*, est un invertébré marin benthique à cycle de vie complexe (Figure 1) (Whale et Steneck, 1991; Factor, 1995; Spicer et Eriksson, 2003; Whale, 2003).

D'un point de vue évolutif, l'expression de phénotypes durant un stade précis du cycle complexe de développement permet l'émergence de traits adaptés à un environnement particulier (Moran, 1994). Malgré les avantages d'un cycle de vie complexe chez les invertébrés marins (*e.g.* pour la dispersion, l'évasion de prédateurs, et l'alimentation), la spécialisation de certains stades pourrait les rendre plus vulnérables à des fluctuations environnementales dépassant l'amplitude habituelle des régimes de variations abiotiques à chaque habitat.

Chez des invertébrés marins, plusieurs facteurs environnementaux peuvent avoir un effet négatif sur les premières phases de vie dans un cycle de vie complexe (Byrne, 2011). Les effets négatifs de la variation de température et de l'incidence élevée de maladies sur des éléments clé du recrutement du homard américain, comme la fixation des oeufs, le développement larvaire, la survie, la croissance, la capacité reproductive, *etc.*, peut modifier la distribution spatiale de l'espèce dans la nature (Aiken et Waddy, 2013; Quinn et Rochette, 2015). Il est également reconnu que les effets négatifs des niveaux élevés de la $p\text{CO}_2$ dans l'eau de mer varient selon les espèces, mais sont généralement négatifs quand les températures approchent la limite thermique (Wittman et Pörtner, 2013; Whiteley, 2011; Findlay *et al.*, 2011; Evans *et al.*, 2013; Paganini *et al.*, 2014).

La réponse d'une diminution de pH sera principalement physiologique, impliquant la capacité de régulation acido-basique (Whiteley, 2011), ayant des impacts indirects sur le métabolisme et le budget énergétique (Carter *et al.*, 2013). Les études plus récentes sur les crustacés démontrent également que les bas pH affectent à différents degrés les différentes espèces (Keppel *et al.*, 2012). Il est donc important de comprendre les effets de ce stress environnemental spécifique à chaque espèce dans un contexte de changement global.

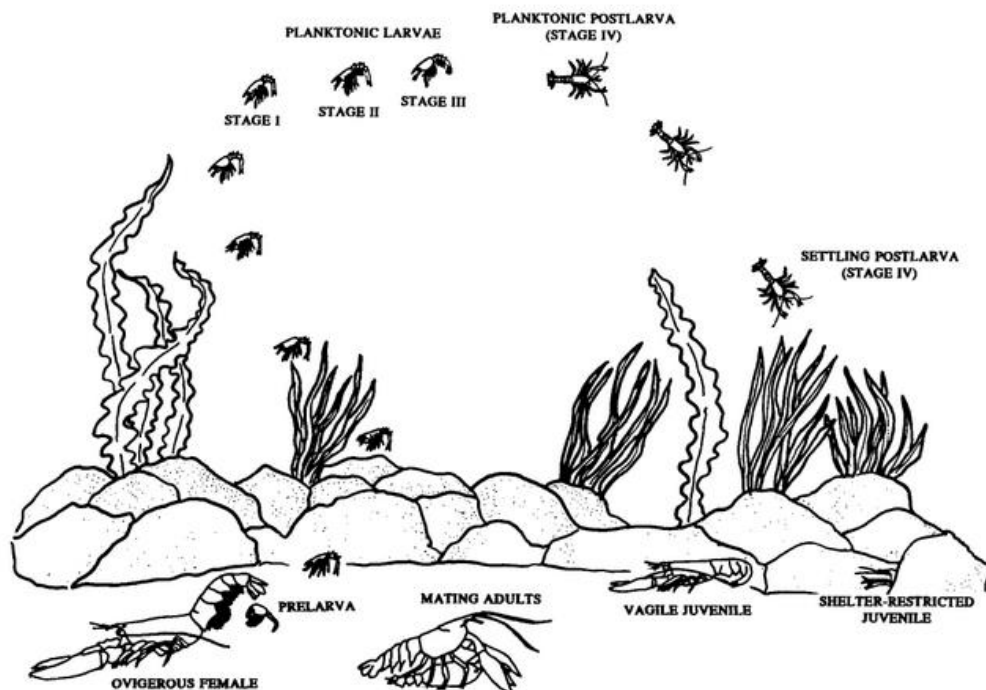


Figure 1. Schématisation du cycle de vie complexe du homard américain (*Homarus americanus*) montrant chaque phase de développement de l'émission des larves dans la colonne d'eau jusqu'à la reproduction adulte (Source : dessiné par K. Lavalli à partir d'un dessin original dans Harding, 1992).

L'ACIDIFICATION DES OCEANS

L'un des principaux facteurs du changement global est l'acidification des océans (AO). Tout comme le réchauffement global causé par l'effet de serre sur notre planète, l'excès d'émissions de gaz carbonique (CO_2) est à la cause première de l'AO (Caldeira et Wickett, 2003; GIEC, 2013). L'océan a absorbé 30 % de ces émissions anthropogéniques, entraînant une modification de la chimie des carbonates et une baisse corrélée du pH marin (Taylor *et al.*, 2015). Se basant sur le principe de LeChatelier, l'ajout de plus de réactif dans une réaction chimique doit se dissocier en nombre égal de produits afin de maintenir un équilibre chimique entre les produits et les réactifs (Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001). C'est alors que le CO_2 absorbé par l'océan réagit avec les molécules d'eau et se forme plus d'acide carbonique (H_2CO_3). Ce produit est une forme instable qui se dissocie immédiatement en ions bicarbonate (HCO_3^-) et en ion H^+ . Cette dissociation provoque une diminution du pH par une augmentation de la concentration d'ions H^+ . La

diminution de pH pourrait être encore plus drastique sans l'effet tampon des ions carbonate (CO_3^{2-}). L'effet tampon du CO_3^{2-} devrait limiter la baisse du pH océanique et entraîner une réduction de la concentration de H^+ libre (Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001; figure 2).

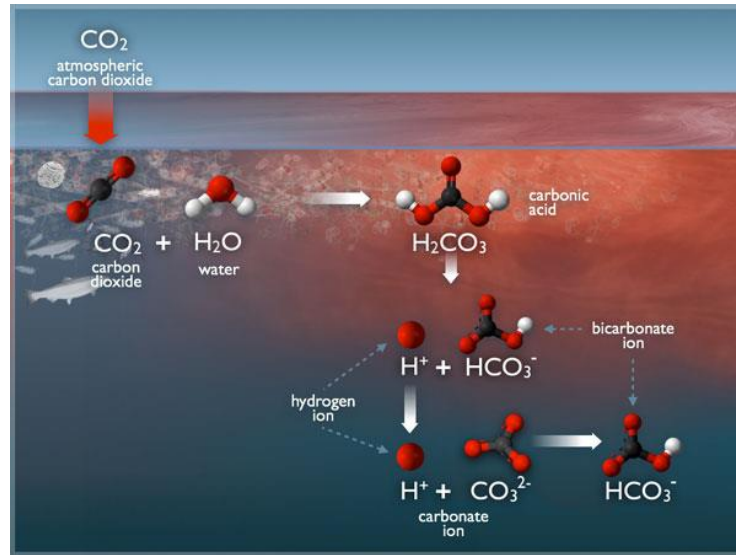


Figure 2. Représentation schématique de la chimie des carbonates dans le système marin. Le CO_2 atmosphérique est absorbé par l'océan pour maintenir un équilibre entre la $p\text{CO}_2$ atmosphérique et océanique. La chimie des carbonates comprend trois espèces principales : le dioxyde de carbone dissous (CO_2), les ions bicarbonate (HCO_3^-) et les ions carbonate (CO_3^{2-}) qui se dissocient et s'associent avec des ions de H^+ dans l'eau. (Source : « Introduction to OA : OCB-OA », Woods Hole Oceanographic Institution)

Actuellement, au rythme du relâchement d'émission de CO_2 dans l'atmosphère et, par conséquent, d'absorption par l'océan, l'effet tampon naturel de la chimie des carbonate ne suffit pas à maintenir un pH stable dans l'océan, produisant un surplus d'ions H^+ et une concentration plus élevée de HCO_3^- tout en entraînant une forte diminution des ions CO_3^{2-} . C'est ainsi que la chimie des carbonates entraîne la baisse du pH océanique par l'acidification des océans (figure 3).

Depuis l'époque de la révolution industrielle, les émissions de CO_2 ont augmentées exponentiellement et continuent à alimenter l'acidification des océans à travers le monde (Caldeira et Wickett, 2003; Caldeira et Wickett, 2005). La progression de AO est un phénomène inquiétant pour la biodiversité et surtout pour les espèces calcifiantes (Kleypas *et al.*, 1999; Doney *et al.*, 2009; Hendriks *et al.*, 2010; Kroeker *et al.*,

2010; Hale *et al.*, 2011) dont font partie les crustacés. Les conséquences de l'AO sur les crustacés marins ne viennent pas tant de l'incapacité de calcification, mais pourraient plutôt être perçues particulièrement au niveau du métabolisme, de la capacité énergétique, du comportement, et de la santé générale des individus touchés par ces conditions. Ces conséquences menacent donc la survie des organismes, ce qui risque d'hypothéquer l'industrie des pêches et incite la communauté scientifique à investir les efforts pour accélérer l'acquisition des connaissances (Widdicombe et Spicer, 2008; Whiteley, 2011). Le potentiel d'impacts socio-économiques sur les industries qui dépendent de la santé des crustacés d'intérêt commercial est au cœur de cette initiative (Falkenberg et Tubb, 2017).

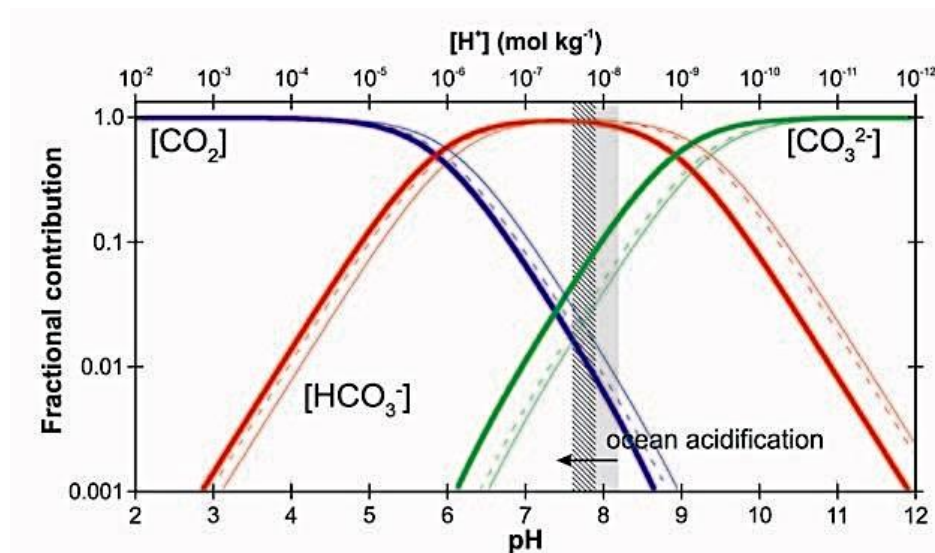


Figure 3. Schématisation de Bjerrum de la chimie des carbonates qui montre la relation entre pH ambiant et la proportion de chaque espèce de carbonate: $[CO_2]$ en bleu, $[HCO_3^-]$ en rouge, et de $[CO_3^{2-}]$ en vert. Le pH marin est contrôlé par les proportions relatives des espèces carboniques. La direction du changement des proportions relatives des espèces de carbonates pendant le phénomène d'acidification des océans est montrée par la flèche noire (Source : Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001).

FUITES DE SYSTEMES CAPTURE ET STOCKAGE DE CARBONNE ET AUTRES VALEURS EXTREMES DE BAS PH

Les études actuelles se concentrent particulièrement sur les effets biologiques des valeurs de pH / $p\text{CO}_2$ du milieu océanique prédites par le GIEC (2013) d'ici à l'an 2100, soit entre 8.05 et 7.65 / 400 et 1 000 μatm . Des diminutions de pH beaucoup plus drastiques que celles prédites dans le cas de l'AO pourraient cependant affecter les crustacés vivant en zone côtière. Les fluctuations côtières de pH bas / $p\text{CO}_2$ élevée pendant des événements d'apport d'eau douce ou de respiration biologiques intenses pourraient causer des valeurs plus sévères que celles prédites d'AO (Duarte *et al.*, 2013). Le pH de la colonne d'eau et du benthos pendant de telles fluctuations peut atteindre des valeurs d'environ 7.40, ce qui correspond à 1500 μatm de $p\text{CO}_2$ (Cornwall *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016).

Un autre vecteur potentiel de pH bas extrême d'origine anthropique provient des fuites de systèmes de capture et de stockage de CO_2 (CSC) (Blackford *et al.*, 2009). La construction de ces systèmes de CSC est prévue dans les sous-sols océaniques à travers le monde (Blackford *et al.*, 2009), et risque d'entraîner un relargage important de masses d'eau à pH bas capable de perturber les espèces benthiques (Widdicombe *et al.*, 2015). Initié avec succès sur les côtes de l'Australie, la Norvège, et au Danemark, la construction des systèmes de CSC est actuellement envisagé au Canada et dans d'autres pays (source: Natural Resources Canada, 2013), alors que ces dispositions sont cœur d'une controverse planétaire (Blackford *et al.*, 2009; Blackford *et al.*, 2014).

Les systèmes de CSC serviraient à diminuer les émissions industrielles de CO_2 dans l'atmosphère dans le but de limiter la contribution à l'effet de serre. Paradoxalement, la mise en place de tels systèmes est une source de risque pour les milieux marins en cas de fuite (par exemple : Blackford *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 2015). Une masse d'eau acidifiée par une fuite potentielle de CO_2 , suite à une faille du compartiment de CSC après un événement sismique, pourrait entraîner un pH extrêmement bas équivalent à une valeur de $p\text{CO}_2$ entre 1 000 et 20 000 μatm (Rastelli

et al., 2015). Une telle masse d'eau à bas pH pourrait être transportée jusqu'aux zones côtières, par circulation océanique et serait présents jusqu'à plusieurs semaines (Mori *et al.*, 2015; Lichtschlag *et al.*, 2015; Blackford *et al.*, 2014) impactant alors ces zones de forte biodiversité et de grand intérêt pour les communautés humaines (Basalotte *et al.*, 2012; Tait *et al.*, 2015).

Les impacts environnementaux et économiques que pourrait avoir une fuite de CSC affecteraient les espèces marines benthiques avoisinantes qui font actuellement l'objet de plusieurs études scientifiques (Basalotte *et al.*, 2012; Donohue *et al.*, 2012; Small *et al.*, 2016). Dans le cas du homard américain, les post-larves fixées et les premiers stades juvéniles se réfugient habituellement dans le sédiment benthique, où les fuites risquent d'être plus concentrées, (Lavalli et Bradshaw, 1986; Factor, 1995). Les interactions entre l'AO, les fluctuations côtières de pH, et les fuites potentielles de CSC pourraient être synergétiques due au déclin de l'effet tampon du carbonate avec l'ajout excessif de CO₂ dans l'océan. Un approfondissement des connaissances sur les effets biologiques, communautaires, et écosystémiques d'une diminution de pH est capital pour prévoir le futur de ces espèces dans l'océan ainsi que pour préparer les communautés humaines qui dépendent de ces ressources vivantes.

SENSIBILITE AU PH BAS LORS DES DIFFÉRENTS STADES DE DEVELOPPEMENT

Lorsqu'on considère la spécificité physiologique, morphologique, et comportementale des premiers stades de vie des invertébrés marins à cycle de vie complexe (Spicer et Gaston, 1999; Spicer et Eriksson, 2003), on réalise que les jeunes phases de vie sont souvent plus sensibles aux stress environnementaux (Kröeker *et al.*, 2010). Une étude de Pörtner et Farrell (2008) constate que les stades juvéniles de poissons marins semblent être moins vulnérables aux environnements défavorables que les stades larvaires et embryonnaires. Cependant, en ce qui a trait au homard, il semble que celui-ci soit plus vulnérable durant les stades post-larvaire et juvéniles que durant

les stades larvaires (Hunt et Scheibling, 1997; Walther *et al.*, 2010; McLean *et al.*, 2016; Small *et al.*, 2015; Waller *et al.*, 2016).

La diminution de pH semble particulièrement affecter le stade de transition (mégaloopa) entre la phase larvaire pélagique et juvénile benthique du crustacé d'importance économique, *Hyas araneus* (Walther *et al.*, 2010; figure 4). Ces phases de transition pélogo-benthique pourraient représenter une fenêtre de vulnérabilité dans le contexte de $p\text{CO}_2$ élevée, ainsi qu'un de goulot d'étranglement de la survie de l'espèce. La vulnérabilité biologique chez le homard Américain pendant la phase de transition pelago-benthique post-larvaire pourrait être semblable dans un contexte de $p\text{CO}_2$ élevée.

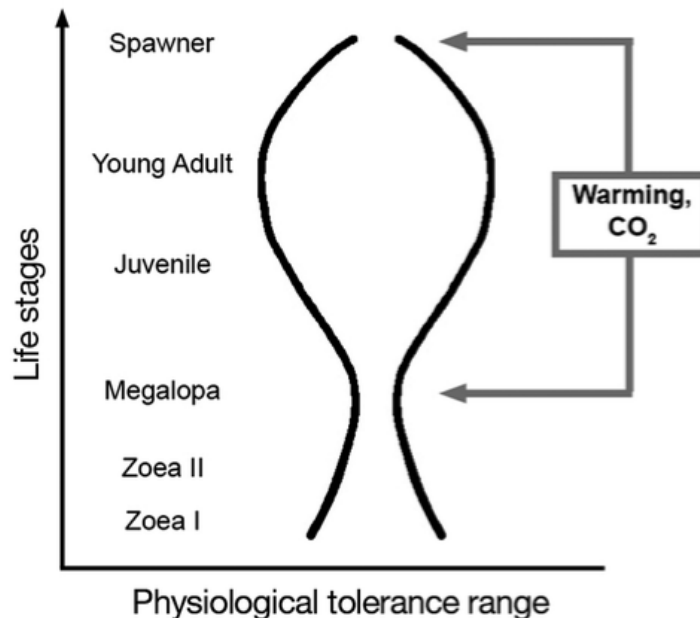


Figure 4. Modèle schématique de la tolérance physiologique du crabe araignée par stade de développement face à des températures et niveaux de $p\text{CO}_2$ élevés (Source : Walther *et al.*, 2010)

Il semble donc que la sensibilité spécifique à la phase de développement, notamment pendant les premiers stades de vie, soit déterminant chez ces crustacés dans la caractérisation de la vulnérabilité l'espèce aux changements globaux et à d'autres conditions de variation de pH (Melzner *et al.*, 2009). Par exemple, le homard Américain, ainsi que les homards Européens (Small *et al.*, 2015; Small *et al.*, 2016) et

Norvégiens (Arnold *et al.*, 2009; Agnalt *et al.*, 2013), se distinguent lorsqu'on évalue l'intensité des impacts biologiques associés aux stades de développement, en particulier lors des premiers stades de vie (Keppel *et al.*, 2012; McLean *et al.*, 2016; Waller *et al.*, 2016).

Même si les crustacés sont considérés comme des espèces relativement tolérantes (Kröcker *et al.*, 2010; Ries *et al.*, 2009), les premiers stades de vie pourraient créer un goulot d'étranglement pour l'espèce et déterminer leurs succès écologique (Melzner *et al.*, 2009). Par exemple, des conditions d'AO à un pH entre 7.8 et 7.5 chez les larves du crabe des neiges du Pacifique, *Chionoecetes bairdi*, entraînent des effets reportés de la phase embryonnaire qui sont marqués durant la phase larvaire, indiquant une réduction métabolique associée à une réduction de la survie, du contenu en calcium de la carapace, et de la morphologie de la carapace (Long *et al.*, 2016). Des conditions de pH plus bas, représentatif de fuites de CSC ou de fluctuations côtières de pH entre 7.6 et 6.0, a des conséquences encore plus sévères que l'AO chez les crustacés, réduisant remarquablement la survie (par ex. Donohue *et al.*, 2012; Small *et al.*, 2015; Small *et al.*, 2016). L'AO à un niveau extrême pourrait changer la structure et la dynamique des populations d'invertébrés marins (Christen *et al.*, 2013; Widdicombe *et al.*, 2015).

Identifier les stades vulnérables chez le homard américain permettrait de comprendre les vecteurs de variation de l'abondance et de la distribution des populations d'invertébrés marins, et par la suite de comprendre la structure de leurs communautés dans le contexte du changement global (Gosselin et Qian, 1997) et pH extrêmes (Widdicombe *et al.*, 2015). Les pêcheries qui se développent autour des produits de la mer, comme la lucrative pêcherie du homard américain, tiennent ces connaissances à cœur pour la résilience de leur industrie.

OBJECTIF PRINCIPAL

Cette étude vise à caractériser les effets d'un gradient de pH bas / $p\text{CO}_2$ élevé qui englobe les conditions prédites pour l'AO, les fluctuations naturelles de pH en zone

côtière et les potentielles fuites de CSC, sur les traits d'histoire de vie et certains traits physiologique sur le premier stade de développement juvénile benthique, juste après le processus de recrutement, chez une espèce d'importance économique et écologique.

ORGANISME D'ETUDE : LE HOMARD AMÉRICAIN

L'industrie a fait la promotion de l'intérêt scientifique du homard Américain dans le contexte de changements globaux, craignant des effets qui pourraient nuire à la dynamique de la population et au succès de la pêche. Afin d'atteindre cet objectif de recherche, il est important de mieux comprendre les jeunes phases de vie, particulièrement avant et pendant la phase de recrutement, puisque c'est aussi là où les effort sont mis pour garder une population de homard saine et exploitable. Le homard Américain est inféodé aux zones côtières marines de l'Amérique du Nord (Wahle et Steneck, 1991; figure 5), où les fluctuations de pH naturels et de source anthropogéniques sont plus fortes que dans les régions plus stables qui sont éloignées de la côte (Gattuso *et al.*, 1998; Drupp *et al.*, 2011).

Comme plusieurs autres espèces de crustacés, le homard Américain a un cycle de vie complexe avec une croissance saltatoire par mues successives (Anger, 2001). Ces mues sont énergétiquement coûteuses et séparent les différents stades larvaires pélagiques et les phases juvéniles et adultes benthiques (figure 1; Factor, 1995). La phase pélagique se distingue par trois stades larvaires suivis d'une métamorphose au stade post-larvaire : le stade IV.

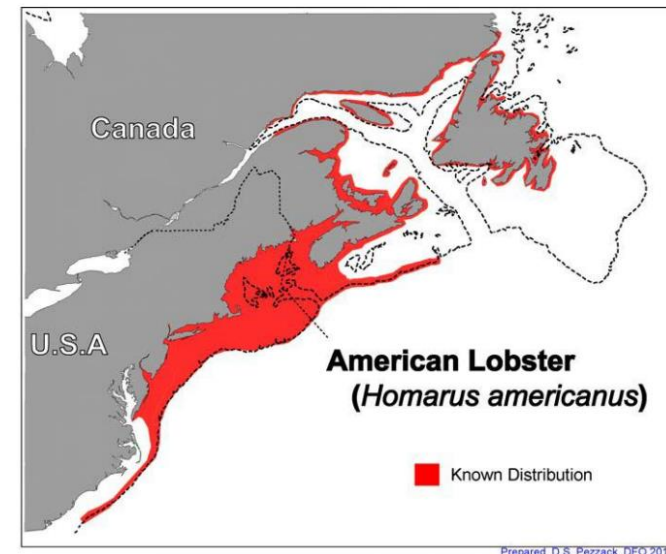


Figure 5. Distribution du homard américain (*Homarus americanus*) basée sur les zones de pêche actuelles et des relevés au chalut de fond effectués par le MPO. (Source : Coffen-Smout *et al.*, 2013)

Le stade post-larvaire marque la transition d’habitat entre la colonne d’eau et le milieu benthique (Botero et Atema, 1982) où se passe la mue au premier stade juvénile benthique : le stade V (Factor, 1995; Quinn et Rochette, 2015). Le stade post-larvaire joue alors un rôle central dans la transition entre la phase larvaire et juvénile, l’installation dans l’habitat benthique étant impérative pour la survie de la post-larve et la poursuite de l’ontogénie vers la phase adulte (Wahle et Stenneck, 1991; Byrne, 2012).

L’effort technique et humain pour aider au maintien des populations naturelles malgré une pression de pêche en augmentation (Comeau *et al.*, 2004; Comeau *et al.*, 2008), se concentre sur ces post-larves. Des opérations d’ensemencement de recrues sont pratiquées depuis des décennies pour améliorer le recrutement des populations naturelles (Addison et Bannister, 1993). Ce procédé vise à relâcher des post-larves (stade IV) produites en éclosérie en milieu côtier. Cette pratique, capitale pour la pêcherie de homard, apporte encore plus de valeur à la connaissance des post-larves dans un contexte de changement global, de fuites de CSC, et de fluctuations de pH côtier.

Les implications entraînées par ces trois vecteurs de modulation du pH pourraient affecter l'économie et les communautés humaines qui dépendent de la santé de l'écosystème dans lequel se retrouve ces ressources (Turley et Gattusso, 2012; Thériault *et al.*, 2013). Parmi ces invertébrés, la pêcherie de homard américain est la principale pêcherie de fruits de mer dans l'océan Atlantique Canadien et plus généralement sur la côte est américaine (Wahle *et al.*, 2003). Avec un revenu équivalent à de plus de 2 milliards de dollars en exportation en 2016 (« Statistique du commerce international », Analyse économique et statistiques, Ministère des Pêches et Océans Canada) et plus de 40 000 milliers de tonnes de homard pêchés aux États-Unis, le déclin soudain de la population de homard au début du 20^e siècle sur la côte des États-Unis était inquiétante à la fois pour le Canada et les États-Unis (Stenneck and Wilson, 2001; Comeau *et al.*, 2004).

Leur importance économique les amènent au premier rang des priorités en recherche, non-seulement en conservation (par exemple : Schiffer *et al.*, 2013; Quinn et Rochette, 2015), mais également pour la prévision des impacts socio-économiques que pourraient avoir les changements globaux sur les pêcheries et les espèces marines calcifiantes (*e.g.* Fernandes *et al.*, 2013; Gattuso, 2013; Falkenberg et Tubb, 2017; Onofri et Pald, 2017). Considérant que les individus d'une espèce ayant un cycle de vie complexe cherchent à se fixer au benthos, l'acidification du pH du milieu avant la phase de recrutement pourrait menacer la population future et les industries qui dépendent de l'espèce. L'industrie de la pêche du homard américain et les communautés côtières qui en tirent leur subsistance.

Les expériences antérieures d'AO sont limitées par l'utilisation de seulement deux à trois niveaux élevés de pH (ex. : Dupont *et al.*, 2013; Duarte *et al.*, 2013), à l'exception d'une étude qui examinait les effets d'un gradient de sept pH sur des communautés benthiques marines (Christen *et al.*, 2013). Ces pH reflètent souvent des conditions prédites pour l'AO jusqu'à la fin du siècle dans le milieu océanique (GIEC, 2013), avec peu de considération pour les fluctuations côtières et autres scénarios de pH extrêmes.

L'utilisation d'un gradient de $p\text{CO}_2$ océanique permettra d'identifier les seuils biologiques lors du développement des individus d'une espèce commerciale le long des côtes du continent nord-Américain. La démarche de cette étude illustre alors une méthode fondamentale qui approfondira les connaissances biologiques d'espèces marines à cycle de vie complexe.

Des post-larves du homard Américain provenant d'une éclosure, ont été soumises à un gradient de $p\text{CO}_2$ élevées (400-3 000 μatm) et pH bas (8.1-7.1) jusqu'à la mue au stade juvénile. Les valeurs sélectionnées pour le gradient représentent des valeurs prédites pour l'océan côtier avec (1) la progression de l'AO d'aujourd'hui jusqu'à la fin du siècle: 400, 600, 800, et 1 000 μatm , (2) les valeurs extrêmes de pH bas naturelles qui deviendront plus fréquentes: 1 200 et 1 500 μatm , et (3) les fuites potentielles de systèmes de CSC : 2 000 et 3 000 μatm . Les conséquences sur les traits d'histoire de vie et physiologiques suite à la mue au premier stade de recrutement juvénile (stade V) ont été examinés dans le but d'évaluer les effets d'une exposition à un pH bas sur la survie, le temps de développement, le taux de consommation d'oxygène et de nourriture, et la structure morphologique, pour ensuite mesurer les effets sur le contenu minéral de la carapace et le fonctionnement d'enzymes mitochondriales dans les tissus abdominaux.

Cette étude vise à mesurer l'effet d'un gradient de $p\text{CO}_2$ élevées / pH bas représentatifs de prédictions futures de conditions d'AO, de fuites de CSC, et de fluctuations de pH côtier sur la biologie d'une espèce à cycle de vie complexe pendant une phase de développement cruciale au recrutement benthique juvénile. Il s'agit de la première étude à incorporer de très bas pH chez le homard américain. Un autre objectif est de vérifier si la phase post-larve représente ou non un goulot d'étranglement vers le recrutement juvénile. L'approche permettra aussi de confirmer le degré de sensibilité de la phase que l'on croit représenter un goulot d'étranglement lors du recrutement de juvéniles.

1 **CHAPITRE 1**

2

3 **LA SENSIBILITE DES POST-LARVES AUX**
4 **NIVEAUX DE $p\text{CO}_2$ ÉLEVÉES AUGMENTE LA**
5 **DEMANDE ÉNERGÉTIQUE ET RÉDUIT LA**
6 **SURVIE DES RECRUES JUVÉNILES**
7 **BENTHIQUES DU HOMARD AMERICAIN,**
8 ***HOMARUS AMERICANUS***

9

10 Post-larval sensitivity to elevated seawater
11 $p\text{CO}_2$ increases energetic demand and
12 reduces survival of benthic juvenile recruits
13 of the American lobster, *Homarus*
14 *americanus*

15

List of Authors: Kayla Menu-Courey^{1*}, Fanny Noisette^{1,2}, Sarah Piedalue¹, Dounia Daoud³, Tammy Blair⁴, Kumiko Azetsu-Scott⁵, Piero Calosi¹

¹ Département de Biologie, Chimie et Géographie, Université du Québec à Rimouski, 300 Allée des Ursulines, Rimouski, Québec, G5L 3A1, Canada.

² GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean research, Kiel, Germany / Institute for Marine and Antarctic Studies, University of Tasmania, Hobart, Tasmania 7001, Australia.

³ Homarus Inc, 408 rue Main, Shediac, N-B E4P 2G1, Canada.

⁴ Department of Fisheries and Oceans, Saint Andrews Biological Station, 532 Brandy Cove Road, Saint Andrews, N-B E5B 2L9, Canada.

⁵ Department of Fisheries and Oceans, Bedford Institute of Oceanography, 1 Challenger Drive, Dartmouth, NS B2Y 4A2, Canada.

Key words: Ocean acidification, Carbon Capture and Storage, CO₂ leakages, low pH, juvenile recruitment, aerobic metabolism, acid-base regulation, mitochondrial function, lobster fisheries

Paper Type: primary research article

1.1 INTRODUCTION

Up to 85 % of all benthic marine species have complex life cycles with distinct larval stages preceding metamorphosis to the juvenile stages that lead to the adult phase (Pechenik, 1999). Of these species, invertebrates with complex life cycles are often associated with highly valuable commercial fisheries: for example, within the molluscs, echinoderms, and decapod taxa (Sunday *et al.*, 2011; Whiteley, 2011). Commercially important decapod species, namely crustaceans (*i.e.* shrimp, crabs and lobsters) have complex life cycles that include several morphologically, physiologically, and behaviourally distinct developmental stages associated to specific habitats throughout ontogeny (Factor, 1995; Spicer, 1995; Spicer and Eriksson, 2003). Among these crustaceans, the American lobster, *Homarus americanus* (H. Milne Edwards, 1837), has three pelagic larval stages followed by an intermediate post-larval stage that eventually settle on the benthos, marking the success of juvenile recruitment (Incze and Wahle, 1997).

The metamorphic moult to the post-larval (stage IV) stage of the American lobster represents a pivotal physical, physiological, and behavioural transition between the larval pelagic phase and the juvenile benthic phase in the early life history of the complex life cycle of this species (Wahle and Steneck, 1991; Factor, 1995; Whale 2003). It is critical for recruitment success for the stage IV post-larvae to settle and successfully moult to the stage V, the first juvenile phase (Incze and Wahle, 1997). As discussed by Wahle and Steneck (1991), the first stages of lobster recruitment have naturally high mortality rates, being known to represent a bottleneck in the lobsters' life cycle (Forgarty and Iodine, 1986). The consequential numbers of recruited lobsters eventually contribute to the adult population (Wahle and Steneck, 1991), making benthic recruit survival critical for the viability and the durability of the population, particularly under harvesting pressure (Miller, 1997; Steneck and Wilson, 2001).

With the lobster landed value growing from the 1990's to over \$ 680 M in Canada (Department of Fisheries and Ocean, Canada) and landings reaching record

highs above 40 000 mt in the United States in the early 2000's (Wahle *et al.*, 2011), the Canadian and American lobster industry prioritizes the protection of the resource after seeing record-breaking population declines in some regions along the coast of both countries (Stenneck and Wilson 2001; Comeau *et al.*, 2004). Since the contribution to benthic recruitment begins with the successful settlement of stage IV post-larvae, the release of individuals during this developmental stage has become an increasingly popular method in attempts to increase benthic recruitment numbers and, ultimately, future stock abundances (e.g. Bannister and Addison, 1998; Castro *et al.*, 2001; Comeau *et al.*, 2004). It is therefore important to better understand the potential negative impacts of ocean acidification one of the main global change phenomenon, and other extreme low pH events such as carbon capture and storage system (CCS) leakages and current low pH events in coastal ecosystems, on the survival of this economically important species. This is particularly important for the critical early stages in development (Waller *et al.*, 2016), more specifically for the survival of post-larval individuals released into the wild for stock enhancement (Addison and Bannister, 1994).

As a result of anthropogenic atmospheric CO₂ uptake, ocean acidification (OA) is a phenomenon occurring in our oceans, which results in a low pH / elevated *p*CO₂ levels in seawater, and a shift in carbonate chemistry (Zeebe and Wolf-Gladrow, 2001; IPCC, 2013). More specifically, the increase in emissions predicted worst-case scenario concentrations of atmospheric CO₂ at around 600 ppm in 2050 and 1 000 ppm in 2100, corresponding to a drop in the global oceanic pH to 7.75 by 2050 and to 7.5 by 2100. In coastal areas beyond the intertidal, pH fluctuations are common (Duarte *et al.*, 2013). Reaching values that are much lower than the predicted OA scenarios for the global open ocean (Hoffman *et al.*, 2011), these low pH drivers have the potential to negatively affect coastal ecosystems (Doney, 2010) and alter marine biodiversity through differential taxonomic vulnerabilities (Hale *et al.*, 2011). Events that drive low pH fluctuations are already frequent in the coastal environment. These often result from natural phenomenon, such as the coastal influx of freshwater (Li *et al.*, 2016), or from human-induced coastal eutrophication that causes high respiration in the water column

(Diaz and Rosenberg, 2008; Cai *et al.*, 2011). Together with the reduced buffering capacity associated with OA, pH variability is predicted to continue to increase greatly in the future (Egleston *et al.*, 2010; Cornwall *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016).

Besides these concerning low pH drivers already occurring in our coastal oceans today (Doney, 2010), the potential construction of CCS in our oceans may also become a low pH driver that would negatively affect marine benthic organisms in the case of an accidental leak in the system (Blackford *et al.*, 2009). In order to slow down the accumulation of industrial CO₂ emission into the atmosphere and ocean, CCS systems are built in order to store these emissions into sub-seabed reservoirs (Blackford *et al.*, 2015). The current plans to implement CCS systems in the Atlantic Ocean could negatively affect coastal marine invertebrates (Widdicombe *et al.*, 2015), even at a distance (Blackford *et al.*, 2008). Oceanic currents and stratification can easily trap water masses acidified by a CCS CO₂ leak (Phelps *et al.*, 2015), making their construction in the North-West Atlantic a serious risk for benthic organisms reached by the resulting low pH conditions.

Low pH conditions are known to affect marine crustacean survival, development, growth, mass, size, carapace mineral composition, behaviour, internal pH balance, metabolism, and energetics, particularly in early life history phases (e.g. Kurihara *et al.*, 2008; Bechmann *et al.*, 2011; Basalotte *et al.*, 2012; Agnalt *et al.*, 2013; Carter *et al.*, 2013; Schiffer *et al.*, 2013; Widdicombe *et al.*, 2015; Waller *et al.*, 2016; Small *et al.*, 2016; Long *et al.*, 2017). However, there is more to learn about the specific effects of a low pH environment on the life history and physiology in selected invertebrate species. While lobsters distribution may shift northward to cooler waters as the ocean warms (Dong and Somero, 2009), the potential effects of low pH / elevated *p*CO₂ levels will remain an issue for the American lobsters especially because the sharpest pH decreases are expected to occur in cooler waters at higher latitudes (Fabry *et al.*, 2009).

The aim of our study is to investigate the effects of post-larval exposure to a seven-level gradient of elevated seawater *p*CO₂ conditions ranging from current and future scenarios occurring in coastal areas and estuaries, as well as predicted OA conditions,

and CCS leakages on the life history traits (LHT) and physiological traits of stage V juvenile American lobsters (*H. americanus*), a critical stage for the recruitment success of lobster populations, particularly if harvesting pressures were to increase with the progression of ocean warming and acidification.

In order to address our aim, we raised post-larval stage IV individuals of the American lobster in one of seven $p\text{CO}_2$ level conditions (400, 600, 800, 1 000, 1 200, 2000, 3 000 μatm ; pH: 8.1 – 7.1) representing $p\text{CO}_2$ fluctuations that may occur from three main drivers: (1) ocean acidification, (2) naturally low pH fluctuations in coastal systems, and (3) leakages from industrial carbon capture storage systems.

It is expected that exposure to the $p\text{CO}_2$ -gradient will have negative effects on survival, development, structure, metabolism, feeding rates, and energetics of the lobster juveniles (McLean *et al.*, 2016; Small *et al.*, 2016; Waller *et al.*, 2016), the gradient-approach of this experiment will enable the identification of potential recruitment thresholds with increasing seawater $p\text{CO}_2$.

1.2 MATERIALS AND METHODS

1.2.1 SPECIMEN COLLECTION, TRANSPORT AND MAINTENANCE

Lobstermen from the Maritimes Fishermen's Union captured egg-bearing female *H. americanus*, H. Milne Edwards (1837), using benthic lobster traps off the coast of the Acadian peninsula (NB, Canada) in the Baie des Chaleurs (47°46'47"N 64°42'49"W) in May 2016. Ovigerous females were held on land in highly aerated 500 L tanks supplied with mechanically and biologically filtered seawater from the Baie des Chaleurs (T = 20 °C, pH = 8.0, salinity = 28) at the Coastal Zones Research Institute (CZRI). Hatched individuals were transferred to 20 L kreisels containing re-circulated mechanically and biologically filtered seawater and fed frozen *Artemia* (Hikari, Kyorin Co. Ltd, Kanschai City, Japan) twice daily. Larvae were reared communally to the stage IV. Immediately after moulting to stage IV, 2 000 stage IV post-larval lobsters (0 d old) were transported by car in the aerated coolers (Coleman 48-Quart Cooler, Brampton, ON, Canada) filled

with ambient seawater at 17 °C to help prevent the water from reaching critically high temperatures during transportation. There were brought to the Department of Fisheries Oceans' Biological Station laboratory in Saint Andrews (NB, Canada).

1.2.2 EXPERIMENTAL DESIGN

In order to test the impacts of post-larval exposure to elevated $p\text{CO}_2$ levels on the life history and physiology of juvenile lobsters, post-larval (stage IV) lobsters were exposed to a gradient of current and future scenario pH/ $p\text{CO}_2$ levels. . The latter were chosen based on current global ocean conditions (400 μatm) to predicted $p\text{CO}_2$ values between now and the end of the century (600, 800, 1 000 μatm , IPCC 2014), ecologically relevant coastal $p\text{CO}_2$ fluctuations (1 200 μatm , Wolfe *et al.*, 2013), and levels potentially achieved from industrial accidents involving carbon capture storage (CCS) leakages (2 000 and 3 000 μatm , Rastelli *et al.*, 2016).

Following the arrival at the Saint Andrews Biological Station, stage IV post-larval lobsters were randomly transferred using 1 Oz. plastic cups (Disposable Polypropylene Graduated Medicine Cup, SETON, Richmond Hill, ON, Canada) to minimize mechanical damage and stress and to ensure that they remain in water throughout the transfer. Specimens were kept individually (avoiding cannibalism) in basket-like containers that were 3.5 " in diameter (Net Pots, Canadian Wholesale Hypotonics, Elie, MN, Canada) rafted at the water surface of 500 L tanks (1 m diameter x 0.70 m depth), i.e. the replicate units of the different seawater $p\text{CO}_2$ levels. Within the 72 h following transfer, dead individuals were replaced to maintain an equal starting number of 15 stage IV post-larvae *per* tank for exposure before testing the biological effects of post-larval exposure at elevated $p\text{CO}_2$ levels on stage V juvenile lobsters.

Incoming water in the experimental tank system was supplied from Brandy Cove in the Passamaquoddy Bay (NB, Canada), passing through a series of sand filters (20 μm), a UV-treatment, and heated *via* the use of boilers and a series of heat exchangers before entering the two constantly replenished head tanks responsible for filling each experimental tank. Temperature was monitored with a probe to maintain the set

temperature of 18 °C, mimicking the optimal temperature for juvenile lobster growth and survival from Baie des Chaleurs in the laboratory (Daoud *et al.*, 2014). Head tanks were bubbled with ambient air to oxygenate incoming seawater. Daily measurements of salinity remained relatively constant throughout the experiment at 31.5 (\pm 0.02) on average.

Post-larval stage IV lobsters were split into the twenty-four tanks, with four replicates for each CO₂-enriched treatments. Four identical tanks without CO₂-enrichment were used as controls. The pH / pCO₂ treatments were maintained using a pH regulation system (IKS, AquaStar, Karlsbad, Germany) equipped with a glass electrode to measure pH every 5 min. From the measured pH in each tank, the IKS system released CO₂ gas into the seawater, maintaining the desired pH level for all six conditions tested in this study. IKS pH levels were adjusted daily from independent pH measurements made in each of the tanks. Furthermore, all tanks were equipped with a water pump (Maxi-Jet 400, Marineland Aquarium Products, Cincinnati, OH, USA) to facilitate water mixing and to maintain homogeneous water chemistry within the tanks, and small air stones that released air to maintain oxygen saturation in the water.

1.2.3 PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISATION OF SEAWATER

Physical and chemical parameters of the seawater (i.e. temperature, salinity, pH on the total scale, and dissolved oxygen) were monitored daily using a refractometer, a pH meter (SevenGo Portable pH Meter, Mettler Toledo, Mississauga, ON, Canada) and an oxygen meter (SevenGo Portable Dissolved Oxygen Meter, Mettler Toledo). Over the course of the experiment, mercury (II) chloride-fixed (0.002 %) seawater samples (volume 500 mL) of one quadruplicate tank *per* pH / pCO₂ level were stored weekly in 500 mL BOD bottles (Borosilicate Biochemical Oxygen Demand Bottles, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) in a dark box at room temperature. These samples were shipped to a specialized laboratory at the Bedford Institute of Oceanography, BIO (NS, Canada), to measure salinity and total alkalinity (TA, μ mol kg⁻¹). TA was determined using the tiemo

1.3 software (Metrohm AG, Herisau, Switzerland) by an open cell potentiometric titration with a full curve fit function (Dickson *et al.*, 2007).

The carbonate chemistry of the seawater in each pH / $p\text{CO}_2$ condition (Table 1) was calculated in R (version 3.0.1) using the “Seacarb” package (Gattuso *et al.*, 2015) by combining the average weekly alkalinity and salinity obtained from BIO with daily measurements of temperature (T °C) and pH on the total scale (pH_T) made over the course of the experiment.

Table 1. Mean (\pm SE) measured and calculated (indicated with an asterix *) seawater physical chemistry in control and experimental seawater conditions over the course of the experiment. The number of daily measurements: n, temperature: T ($^{\circ}$ C), salinity: sal, dissolved oxygen (%): DO, pH in the total scale: pH_T, CO₂ partial pressure: $p\text{CO}_2$ (μatm), bicarbonate ion concentration: HCO₃⁻ ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), carbonate ion concentration: CO₃⁻ ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), total dissolved inorganic carbon: DIC ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), total alkalinity: TA ($\mu\text{mol kg}^{-1}$), saturation state of seawater with respect to aragonite: Ω_{ara} , saturation state of seawater with respect to calcite: Ω_{cal} .

$p\text{CO}_2$	400	600	800	1000	1200	2000	3000
n	111	112	112	106	109	108	106
T $^{\circ}$ C	17.97 \pm 0.012	18.10 \pm 0.12	18.12 \pm 0.089	18.08 \pm 0.11	18.09 \pm 0.11	17.97 \pm 0.014	18.00 \pm 0.012
sal	31.5 \pm 0.02	31.5 \pm 0.02	31.5 \pm 0.02	31.5 \pm 0.02	31.5 \pm 0.02	31.5 \pm 0.02	31.5 \pm 0.02
DO	98.14 \pm 1.2	98.48 \pm 1.4	98.86 \pm 1.1	108.1 \pm 0.9	99.17 \pm 0.9	109.1 \pm 0.8	98.91 \pm 0.9
pH _T	7.97 \pm 0.02	7.89 \pm 0.06	7.8 \pm 0.10	7.73 \pm 0.10	7.67 \pm 0.10	7.39 \pm 0.12	7.17 \pm 0.11
* $p\text{CO}_2$	473.27 \pm 2.63	586.42 \pm 11.47	760.89 \pm 22.35	912.31 \pm 27.12	1047.97 \pm 25.60	2116.89 \pm 65.32	3513.59 \pm 98.08
*HCO ₃ ⁻	1815.917 \pm 0.0211	1858.850 \pm 2.617	1904.612 \pm 3.536	1935.822 \pm 3.662	1958.731 \pm 3.391	2039.756 \pm 2.028	2075.362 \pm 1.764
*CO ₃ ⁻	129.192 \pm 0.576	111.878 \pm 1.134	93.403 \pm 1.530	80.733 \pm 1.613	71.517 \pm 1.466	38.797 \pm 0.854	24.330 \pm 0.672
*DIC	1961.605 \pm 0.791	1991.037 \pm 1.836	2024.367 \pm 2.740	2048.187 \pm 2.894	2066.558 \pm 2.696	2152.344 \pm 3.347	2222.062 \pm 4.239
*TA	2135.872 \pm 0.640	2135.896 \pm 0.635	2135.896 \pm 0.635	2135.743 \pm 0.668	2135.822 \pm 0.651	2135.796 \pm 0.657	2135.524 \pm 640
* Ω_{ara}	2.028 \pm 0.00895	1.758 \pm 0.0176	1.467 \pm 0.0239	1.268 \pm 0.0252	1.123 \pm 0.0230	0.609 \pm 0.0134	0.382 \pm 0.0106
* Ω_{cal}	3.161 \pm 0.0139	2.738 \pm 0.276	2.285 \pm 0.0373	1.975 \pm 0.0393	1.750 \pm 0.0358	0.949 \pm 0.0209	0.595 \pm 0.0164

1.2.4 DETERMINATION OF SURVIVORSHIP, DEFORMITIES, AND DEVELOPMENT PERIODS

Individual lobsters were checked daily to record mortalities and evidence of a moulting event (e.g. shed carapace). Dead individuals were removed immediately to avoid bacterial accumulation and contamination in the tanks. The moulting date presumed for stage IV juveniles was the same day as their arrival, as confirmed by the hatchery. The intermoult period (IP) was then determined in number of days using the following formula:

(Eq. 1)

$$IP = M_{IV} - M_V$$

Where M_{IV} is the moulting date at stage IV and M_V is the moulting date to stage V observed in the experimental tanks

1.2.5 DETERMINATION OF FEEDING RATES AND ROUTINE METABOLIC RATES

Feeding rates (FR) and resting metabolic rates (RMR), defined here as oxygen consumption rates obtained when lobsters were mostly immobile and disrupted by no light, noise, or physical disturbances. The RMR were used as proxies of metabolism for the juvenile lobsters at stage V across pCO_2 conditions. FR and RMR were determined for each pCO_2 condition in eight stage V (that moulted the same day) specimens *per* seawater condition: two *per* tank. Individuals were not fed for 24 h and then fed pre-weighed and seawater-soaked blocks of herring, *Clupea harengus*, as their food. Non-ingested food was removed and immediately weighed after 1 h in the containers with each selected individual in order to calculate the FR per individual as $mg\ h^{-1}\ g\ wet\ body\ mass^{-1}$ as follows:

(Eq. 2)

$$FR = \frac{\Delta H}{WBM \times \Delta t}$$

Where ΔH is the mass (mg) of consumed herring, WBM is the wet body mass (g) for each individual stage V juvenile lobster, and Δt is the elapsed time during food consumption.

Hereafter, the same individuals were deprived of food again for 24 h in preparation for the RMR: removing digestion bias on the metabolism (Speakman and McQueenie, 1996). Individuals in each tank were then carefully placed in rafted 16 mL borosilicate glass vials (Vials w/ Cap 1.5 drams, VWR International Ltd, Ville Mont-Royal, QC, Canada). Each vial was equipped with a metal stirring rod that was isolated from the lobsters to ensure homogenous oxygen concentration throughout the vials once sealed shut, whilst avoiding contact with the lobster. Vials were sealed with mesh and rubber bands in order to prevent the lobsters from escaping, while allowing for sufficient water flow in the vial during a 12 h period. During this time, the lobster could adjust to the vial, thus reducing stress from the handling and introduction to the new environment. One control vial *per* $p\text{CO}_2$ condition was used to investigate the potential microbial respiration in the seawater. These contained seawater from the tested tank and were manipulated identically to all other vials. Following the 12 h adjustment period, the mesh was replaced by lids in order to seal the vials with the appropriate seawater $p\text{CO}_2$ as in the corresponding experimental tanks. The vials containing both juveniles and the blank samples were moved using an 18 °C water bath to an infrared-illuminated, temperature-controlled room: set to the temperature of the tank seawater of 18 °C. All sealed vials were kept in water basins over magnetic stirrer plates (Mix 15, 2Mag AG, Munich, Germany) to activate stirrers in each vial, thus the mixture of the internal seawater.

Preliminary trials showed linear oxygen consumption above 70 % O_2 saturation, and RMR measures were stopped before reaching such limit. Once the measured daily salinity was entered in the software, the time, temperature, phase O_2 , O_2 % saturation O_2 concentration ($\mu\text{mol L}^{-1}$) were measured using a fibre optic probe and a temperature probe (Fibox 4, PreSens, Regensburg, Germany) constructed of an optical fibre and reactive oxygen sensor spots (Oxygen Sensor Spot SP-PSt3-NAU, PreSens). These oxygen

sensor spots were calibrated according to the manufacturer instructions with packaged 0 and 100 % buffers. Measurements were recorded at the beginning and end of the incubation period and the decline in DO was assumed to be linear, as it was in preliminary trials.

RMR ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$) for individual stage V juvenile lobsters was calculated following the Eq. 3 and corrected for the blank control vials to remove oxygen consumption due to microbial activity and obtain respiration due to the lobsters only. (Eq. 3)

$$RMR_{vial} = \frac{\Delta O_2 \times V}{\Delta t}$$

Where RMR_{vial} is the oxygen consumption inside the vial, ΔO_2 is the difference between the initial and final $[O_2]$ ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$), V is the volume of the vial (L), and Δt is the incubation time (h) for each individual stage V juvenile lobster.

Next, each individual was photographed for morphometric measurements, blotted dry with wipes (KimWipe, Kimtech Science, Brampton, ON, Canada) and weighed to obtain the wet body mass, and separated from the midline into two sections (cephalothorax and claws, and abdomen and telson) using non-metal tools (White Plastic Tweezers, Swiss Precision Instrument Inc., Garden Grove, CA, USA), frozen and stored at - 80 °C using liquid nitrogen to preserve the carapace and tissues for further analyses. Non-metals tools were used over the course of the experiment and laboratory procedures in order to avoid the element contamination from metal tools on the shell mineral content (Quevauviller, 1995).

1.2.6 DETERMINATION OF GROWTH AND MORPHOMETRICS

Photographs of stage V juvenile lobsters sampled for FR and RMR were analyzed using ImageJ Software (ImageJ 1.45s, National Institute of Health, Madison, WI, USA) to determine morphometric effects of exposure to seawater condition. Seven morphological characteristic lengths were measured. The midline of the rostrum (1), starting from behind the eye to the tip of the rostrum structure, the dominant claw's

pollex (2), starting from the joint to the tip of the structure, and the dactylus (3), starting from the joint to the tip of the structure. The dorsal midline of the thorax (4), from the junction to the abdomen to the junction with the rostrum, the dorsal midline of the abdomen (5), starting from the junction of the first segment to the thorax to the tip of the last segment that joins with the telson. Finally, the telson (6), starting at the junction with the abdomen to the tip of the structure was measured. The total lobster length was calculated from adding the measured lengths of structures 4, 5, and 6. The measurements of cephalothorax and abdomen lengths were also used in order to determine ratio changes of these two sections across pH/ $p\text{CO}_2$ conditions.

1.2.7 DETERMINATION OF CARAPACE MINERAL CONTENT

The effects of low pH/ $p\text{CO}_2$ levels on carapace mineral content were determined using the whole cephalothorax carapace of all stage V juvenile lobsters at all pH/ $p\text{CO}_2$ conditions. Chemical analyses on the carapace of the stage V juvenile lobsters were performed at the Laboratoire de Chimie Marine et Spectrométrie de Masse at the University of Quebec in Rimouski (Rimouski, Canada). Previously frozen cephalothorax carapace samples were removed from the rest of the upper body using plastic dissection tools (White Plastic Tweezers, Swiss Precision Instrument Inc.), and freeze dried ($T = -50^\circ\text{C}$) for 12 h to remove any residual moisture (Freezone Freeze Dry Systems, Labcono, Kansas City, MO, USA). Samples were then weighed on a high precision microbalance (MX5 Analytical Micro-balance, Mettler Toledo). Hereafter, they were digested in a mixture of pure nitric acid and peroxide hydrogen (375 μL : 125 μL) (TraceSelect grade, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) at room temperature for 24 h and after short periods warming in a water bath. Samples diluted in ultrapure water were analyzed by inductively coupled plasma (ICP) interfaced to a quadruple mass spectrometer (MS - ICP-MS, Agilent 7500c with micro flow nebulizer, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with an autosampler (ASX 520, Teledyne CETAC, Omaha, NB, USA). Element signals were acquired for 200 msec *per* mass, and three acquisitions were realized. Element quantification ($[\text{Sr}^{2+}]$, $[\text{Ca}^{2+}]$, $[\text{Mg}^{2+}]$, $[\text{Na}^+]$, and $[\text{K}^+]$) was performed in

normal mode with a ten-point external calibration using multi-element reference material (Multi-Element 5, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) with a concentration range between 0.10 and 50 for $[Sr^{2+}]$ and 1.00 and 500 ng mL⁻¹ for other elements. Performances of the method and instrument stability were assessed repeatedly by the analysis of a quality control solution of known metal concentration during the course of analysis coupled with a procedural blank. Control of the system, acquisition and data processing were carried out with the Agilent ChemStation software (Agilent Technologies).

1.2.8 DETERMINATION OF METABOLIC CAPACITY

Frozen abdomen tissues of the same sampled individuals used for carapace mineral content were used to determine enzymatic activities. Lactate dehydrogenase (LDH) and the Electron Transport System (ETS) activities were measured in order to infer anaerobic (LDH) and aerobic (ETS) responses or adjustments to environmental conditions. All solutions were adapted from Thibeault *et al.*, (1997) for LDH and from Lanning *et al.* (2003) for ETS. Using plastic dissection tools (White Plastic Tweezers, Swiss Precision Instrument Inc.), frozen abdomen tissues were separated from the carapace in a polystyrene 100 x 15 mm petri-dish (Plastic Petri Dish, Fisher Scientific), weighed, crushed, and diluted (1/50) with a potassium phosphate buffer in two 2 mL microtubes over ice to create a homogenate tissue dilution. Duplicate wells for each individual lobster were mixed in a polystyrene well plate (96-Well Assay Microplate, Fisher Scientific) with reaction solutions for the LDH and ETS and passed through a plate reader (2104 EnVision Multilabel Plate Reader, Perkin Elmer Inc, Waltham, MA, USA) providing the reaction slopes of the solution absorbance (at 340 and 490 nm, respectively). All well readings were performed at 18 °C to mimic seawater conditions in the experimental design where the lobsters were reared. The slopes were used to determine the specific reactant extinction of each sample as an indicator of the mitochondrial enzyme activity for individual juveniles. Protein content was determined for each tissue dilution using the Sigma-Aldrich's Bicinchoninic Acid Protein Assay

Method (Krohn *et al.*, 1985) using a standard curve to determine and average protein concentration for each sample of diluted lobster tissue. LDH and ETS enzyme concentrations (U mg protein⁻¹) were obtained using the ratio between the reactant extinction coefficient (NADH (6.22) and INT (15.9), respectively) and the protein content of the individual juvenile lobster sample.

1.2.9 STATISTICAL ANALYSES

Data were first tested for the assumption of normal distribution with a Shapiro-Wilk test, and then verified for variance homogeneity using Levene's test. Once assumptions were met, the random variable "tank" (representing the four replicate tanks for each pH / $p\text{CO}_2$ level) was analyzed in the complete model as a random factor, and removed in all cases because it was never found to be significant ($p < 0.05$). Three significant covariates ($p \geq 0.05$) were included in final models for most analyses to take into account differences between individuals and scientific methods: (1) wet body mass was used as a covariate for FR, RMR, and mineral quantification, (2) total body length was used as a covariate for all morphological trait lengths except for the total body length and the cephalothorax-abdomen ratio, (3) temperature was used as a covariate for RMR. Next, a best-fit curve approach was conducted, using as references the linear, logarithmic, two-order polynomial, three-order polynomial regressions types, in order to optimize the representation of the trends observed with exposure to increasing pH / $p\text{CO}_2$ levels. Out of the statistically different models, the one with the best AIC and R^2 was selected as the final best-fit curve for each measured trait. These models were used to analyze the effects of the pH / $p\text{CO}_2$ gradient on the life history and physiology traits at the stage V juvenile recruitment stage.

1.3 RESULTS

Table 2. Summary table of mean (\pm SE) probability of survival (Survival, %), intermolt period (IP, d), feeding rate (FR, mg g⁻¹ h⁻¹), resting metabolic rate (RMR, μ mol h⁻¹), abdomen length (A, mm), cephalothorax length (B, mm), telson length (C, mm), cephalothorax-abdomen length ratio (A : B), carapace [Mg²⁺] (ng mg⁻¹), and mitochondrial function (ETS : LDH) at stage V under seven pCO₂ levels (μ atm) for stage V juvenile lobsters (*H. americanus*)

pCO ₂	400	600	800	1000	1200	2000	3000	394
Survival	51.28 \pm 8.11	60.52 \pm 8.040	45.71 \pm 8.54	50.00 \pm 8.70	39.02 \pm 7.71	37.84 \pm 8.083	36.59 \pm 7.62	395
IP	17.69 \pm 0.42	17.71 \pm 0.39	18.41 \pm 0.37	17.85 \pm 0.40	17.73 \pm 0.36	19.054 \pm 0.36	19.051 \pm 0.56	
FR	131.15 \pm 32.72	153.03 \pm 42.12	74.93 \pm 24.50	199.33 \pm 13.86	NA	241.19 \pm 40.33	139.85 \pm 33.18	
RMR	1.0647 \pm 0.185	0.775 \pm 0.0734	0.615 \pm 0.141	0.705 \pm 0.0699	0.791 \pm 0.124	0.812 \pm 0.152	0.767 \pm 0.147	
A	5.467 \pm 0.230	5.504 \pm 0.292	5.301 \pm 0.295	5.0766 \pm 0.247	4.923 \pm 0.192	5.307 \pm 0.316	5.0134 \pm 0.260	
B	4.624 \pm 0.183	4.644 \pm 0.148	4.773 \pm 0.147	4.651 \pm 0.0778	4.638 \pm 0.0546	5.0290 \pm 0.161	4.848 \pm 0.118	
C	2.898 \pm 0.138	2.853 \pm 0.110	2.964 \pm 0.119	2.792 \pm 0.151	2.661 \pm 0.0510	2.598 \pm 0.102	2.648 \pm 0.123	
A : B	0.856 \pm 0.0569	0.852 \pm 0.0361	0.909 \pm 0.0277	0.928 \pm 0.0349	0.948 \pm 0.0307	0.958 \pm 0.0535	0.979 \pm 0.0411	
[Mg ²⁺]	16440 \pm 618	17772 \pm 924	15977 \pm 881	16756 \pm 1056	18182 \pm 765	19225 \pm 1145	NA	
ETS : LDH	0.718 \pm 0.0698	0.775 \pm 0.0384	0.844 \pm 0.0503	0.892 \pm 0.0514	1.237 \pm 0.110	1.367 \pm 0.0540	NA	

1.3.1 SURVIVORSHIP

All mortalities recorded were a result of mortality during or immediately following the molting process to the stage V juvenile stage. Mean stage IV post-larvae survival was highest at the 600 μatm $p\text{CO}_2$ level and lowest at the 1 200 μatm $p\text{CO}_2$ level (60.52 ± 8.040 and 39.02 ± 8.08 %, respectively, see Table 2). Mean survival decreased significantly, although slightly, with increasing $p\text{CO}_2$ level ($Z_{1,264} = -2.0430$, $P = 0.0411$), which was best described by a linear regression (Fig. 6). The mean values among different $p\text{CO}_2$ levels confirmed the decreasing trend, despite some variation up until the 1 000 μatm $p\text{CO}_2$ level. In more detail, mean probability of survival is lower at the 1 200, 2 000, and 3 000 μatm $p\text{CO}_2$ level relative to the control $p\text{CO}_2$ level.

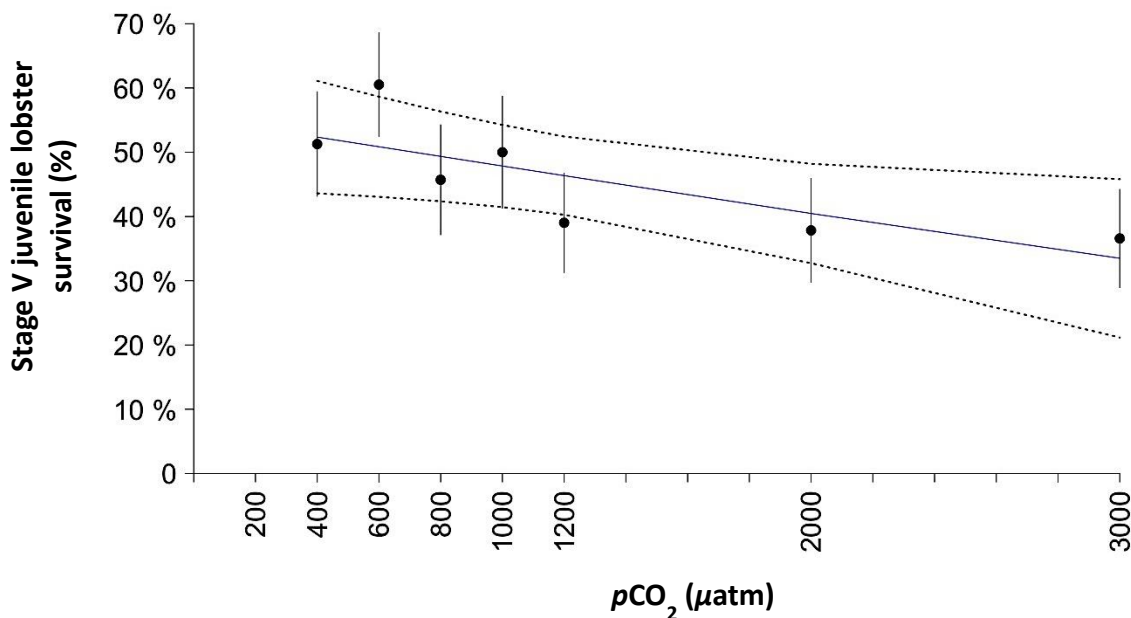


Fig. 6. Predicted effects of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (400, 600, 800, 1 000, 1 200, 2 000, 3 000 μatm) on individual lobster, *H. americanus*, survivorship from stage IV to stage V (\pm SE). The black dots represent the mean calculated values for the probability of survival with \pm SE error bars. The linear model prediction of survival is shown by the blue line (Survival prediction (%) $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. by the dotted black lines.

1.3.2 DEVELOPMENTAL PERIODS

Stage V juvenile lobster mean IP was shortest at the 400 μatm control $p\text{CO}_2$ level, and longest at the 3000 μatm $p\text{CO}_2$ level (17.69 ± 0.42 , 19.054 ± 0.36 d, respectively, see Table 2). IP increased subtly but significantly with increasing $p\text{CO}_2$ level ($F_{1, 259} = 9.928$, $P = 0.00182$, $R^2 = 0.0371$, Adjusted- $R^2 = 0.0333$), which was best described by a linear regression (Fig. 7), despite the weak R^2 of the model. The mean value among different $p\text{CO}_2$ levels show that mean IP is shortest under control conditions up to the 1 200 μatm $p\text{CO}_2$ level, becoming longer at the highest 2 000 and 3 000 μatm $p\text{CO}_2$ level.

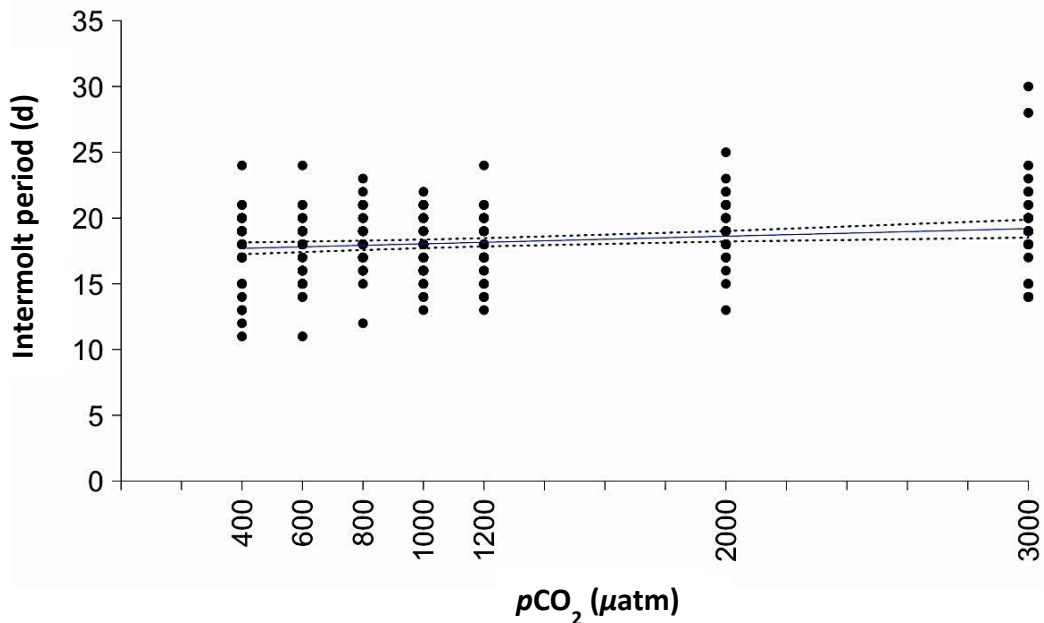


Fig. 7. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels on the intermolt period (d) of individual lobsters from stage IV to stage V. The black dots represent intermolt period (IP) recorded across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction of IP is shown by the solid line (IP prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

1.3.3 FEEDING RATES

Stage V lobster juvenile FR were significantly affected across treatments ($F_{1, 35} = 3.376$, $P = 0.0464$, $R^2 = 0.170$, Adjusted- $R^2 = 0.120$), having the lowest rates at the 800 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$ level and highest at the 2 000 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$ level (74.93 ± 24.50 , 241.19 ± 40.33 $\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectively, see Table 2). First, FR increased steeply and significantly with increasing $p\text{CO}_2$ level up to the 1 000 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$ level. Second, FR began to decrease gently at the 2 000 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$ level, where sudden and more pronounced decrease in FR at the 3 000 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$ level occurred. This relationship was best described by a second order polynomial regression, despite this model being relatively weak (Fig. 8).

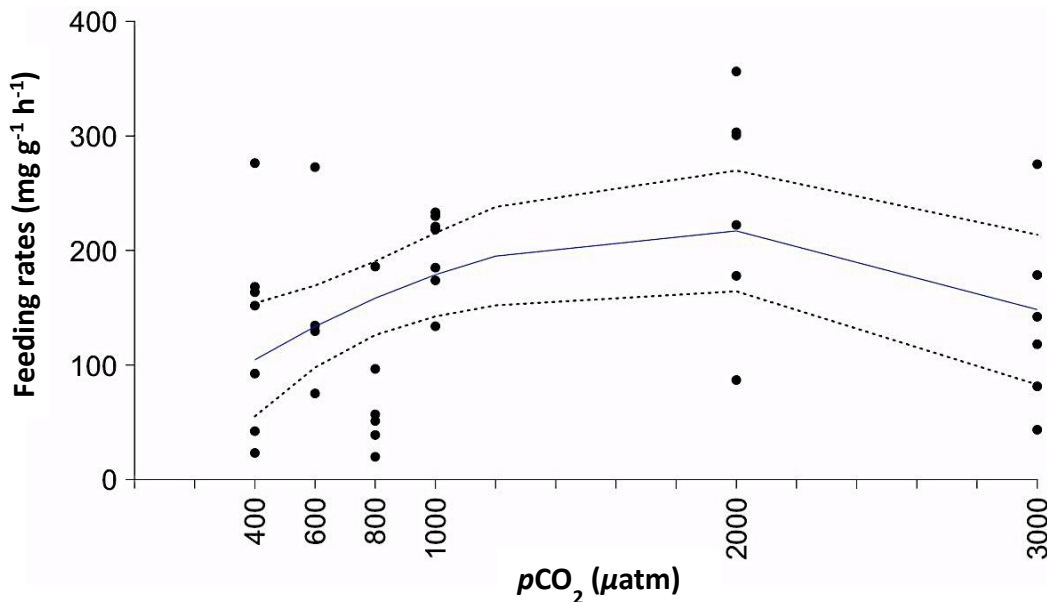


Fig. 8. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the feeding rates ($\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$) of stage V lobster juveniles. The black dots represent individual FR measured across the $p\text{CO}_2$ gradient investigated. The 2nd order polynomial model prediction of FR is shown by the blue line (FR prediction = $p\text{CO}_2$ (μatm) + WBM (wet body mass, g)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

1.3.4 RESTING METABOLIC RATES

Stage V juvenile lobster RMR were not significantly affected by increasing $p\text{CO}_2$ level ($F_{1, 47} = 1.580$, $P = 0.215$, $R^2 = 0.166$, Adjusted- $R^2 = 0.109$). Despite a slight reduction in rates with increasing $p\text{CO}_2$ level, mean RMR remained constant, ranging

from $1.0647 \pm 0.185 \mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$ in the control condition and $0.767 \pm 0.147 \mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$ in the 3 000 μatm conditions (see Table 2).

1.3.5 MORPHOMETRICS

Mean morphological trait of the juvenile lobsters showed significant effects of $p\text{CO}_2$ level for the abdomen length, decreasing with $p\text{CO}_2$ level ($F_{1,45} = 7.605$, $P = 0.00851$, $R^2 = 0.820$, Adjusted- $R^2 = 0.811$), for cephalothorax length, increasing steadily with $p\text{CO}_2$ level ($F_{1,45} = 6.446$, $P = 0.0148$, $R^2 = 0.512$, Adjusted- $R^2 = 0.489$), and for telson length, decreasing slightly with $p\text{CO}_2$ level ($F_{1,45} = 0.133$, $P = 0.00271$, $R^2 = 0.602$, Adjusted- $R^2 = 0.584$). These relationships were each best described by a linear regression (Fig. 9). Mean abdomen size was the largest at the 600 μatm $p\text{CO}_2$ level, and the smallest at the 1 200 μatm $p\text{CO}_2$ level (5.504 ± 0.292 , 4.923 ± 0.192 mm, respectively, see Table 2). Mean cephalothorax size was the smallest at the 400 μatm control $p\text{CO}_2$ level, and the largest at the 2 000 μatm $p\text{CO}_2$ level (4.624 ± 0.183 , 5.0290 ± 0.161 mm, respectively, see Table 2). Mean telson size was the largest at the 800 μatm $p\text{CO}_2$ level, and the smallest at the 2 000 μatm $p\text{CO}_2$ level (2.964 ± 0.119 , 2.598 ± 0.102 mm, respectively, see Table 2).

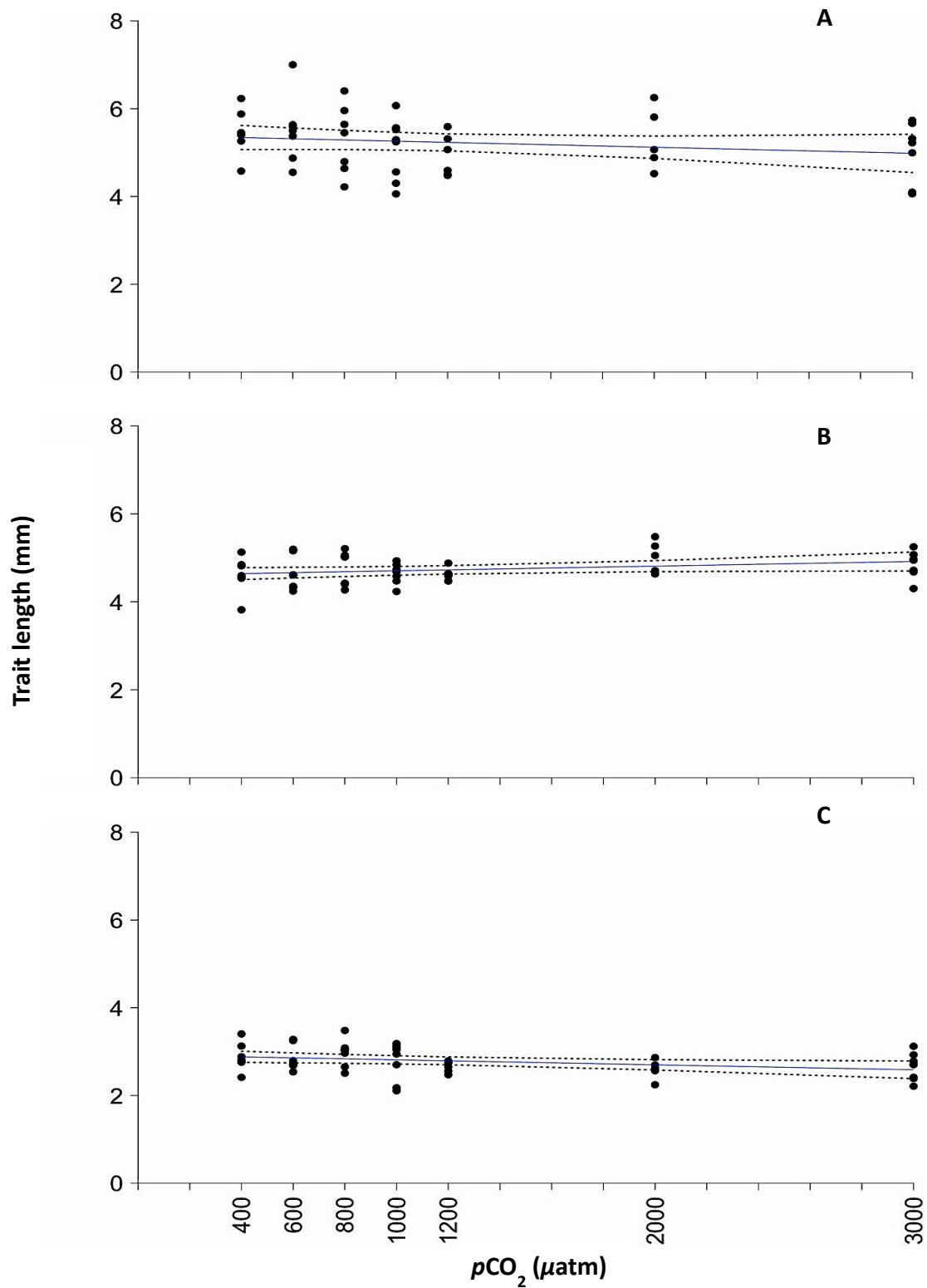


Fig. 9. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the abdomen (A), cephalothorax (B), and telson (C) length (mm) stage V lobster juveniles. The black dots represent the morphometric trait lengths (mm) for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction of the morphometric traits are shown by the blue line (Length predictions = $p\text{CO}_2$ (μatm) + total length (mm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Stage V lobster juvenile mean cephalothorax-abdomen ratio was the lowest at the 400 μatm control and the 600 μatm $p\text{CO}_2$ level, and the highest at the highest at the 3000 μatm $p\text{CO}_2$ level (0.856 ± 0.0569 , 0.852 ± 0.0361 , 0.979 ± 0.0411 , respectively, see Table 2). The ratio increased steadily with increasing $p\text{CO}_2$ level ($F_{1, 45} = 6.916$, $P = 0.0117$, $R^2 = 0.136$, Adjusted- $R^2 = 0.116$), which was best described by a linear regression (Fig. 10). Mean value among different $p\text{CO}_2$ levels further demonstrated the steady increasing trend described above.

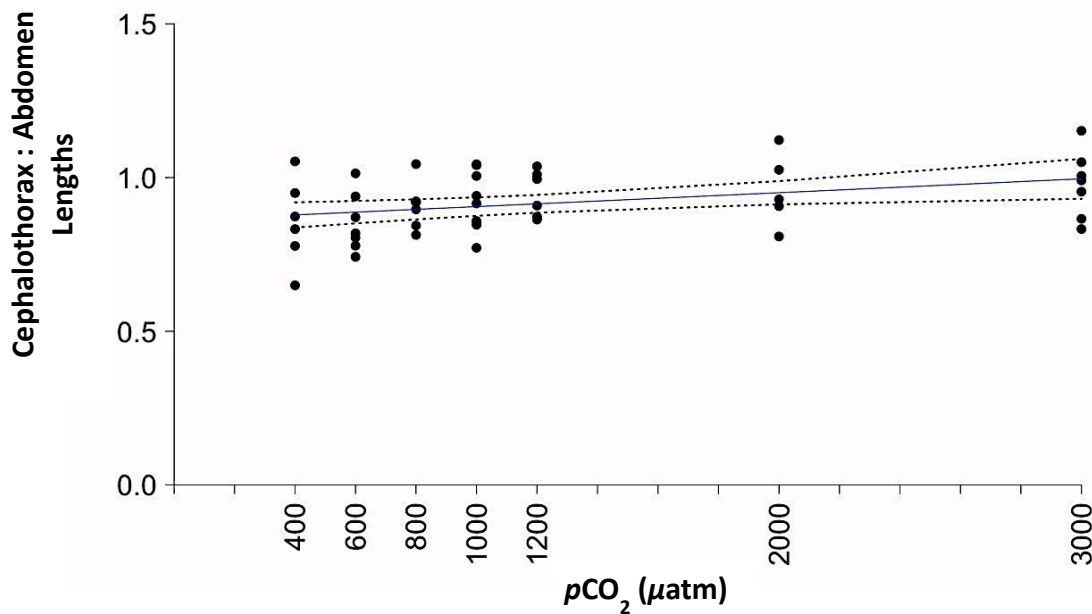


Fig. 10. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the cephalothorax–abdomen ratio for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the cephalothorax–abdomen ratio for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction of the ratio is shown by the blue line (Ratio prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm) + total length (mm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

1.3.6 CARAPACE MINERAL CONTENT

Stage V lobster juvenile $[Mg^{2+}]$ were lowest at the 800 μatm pCO_2 level and reached a maximum at the 2 000 μatm pCO_2 level (15977 ± 881 , 19225 ± 1145 $ng\ mg^{-1}$, respectively, see Table 2). $[Mg^{2+}]$ increased slightly but significantly with increasing pCO_2 level ($F_{1, 35} = 4.611$, $P = 0.0395$, $R^2 = 0.174$, Adjusted- $R^2 = 0.123$), which was best described by a linear regression (Fig. 6). The mean value among different pCO_2 levels showed slight variation between levels, but still confirmed the increasing trend outlined above (see table 2). There were no significant differences among pCO_2 levels for the of $[Sr^{2+}]$, $[Ca^{2+}]$, $[Na^+]$, and $[K^+]$ quantifications, nor for the $[Ca^{2+}]:[Mg^{2+}]$.

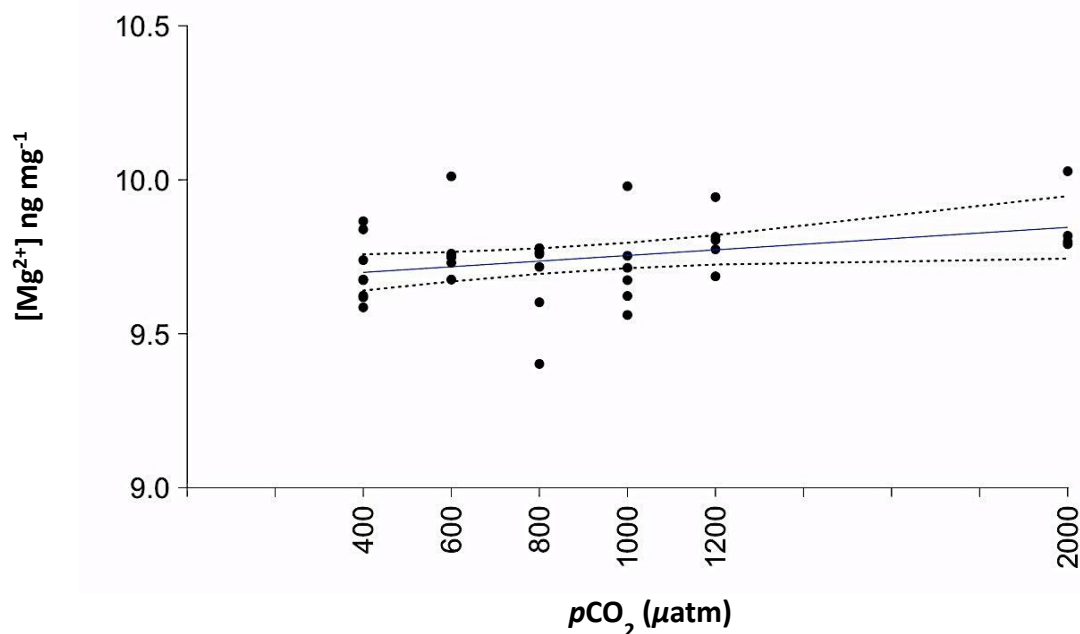


Fig. 11. The effect of exposure to different pCO_2 levels (μatm) on the $[Mg^{2+}]$ ($ng\ mg^{-1}$) in stage V lobster juvenile cephalothorax carapace. The black dots represent $[Mg^{2+}]$ of each individual across pCO_2 levels. The linear model prediction for $[Mg^{2+}]$ is shown by the blue line ($\log [Mg]$ prediction $\sim pCO_2$ (μatm) + WBM (wet body mass of stage V, g)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

1.3.7 ENZYMATIC ACTIVITIES (ETS, LDH, ETS:LDH)

Stage V lobster juvenile mean ETS activity was the lowest at the 400 μatm control $p\text{CO}_2$ level and highest at the 2 000 μatm $p\text{CO}_2$ level ($0. \pm 0.0$, $1. \pm 0.0$, respectively, see Table 2). The ETS activity increased steadily and significantly with little variation, with the exception of the 1 200 μatm $p\text{CO}_2$ level, where there was a large relative increase in variation of the enzymatic response to $p\text{CO}_2$ level ($F_{1,36} = 19.488$, $P < 0.001$, $R^2 = 0.351$, Adjusted- $R^2 = 0.333$).

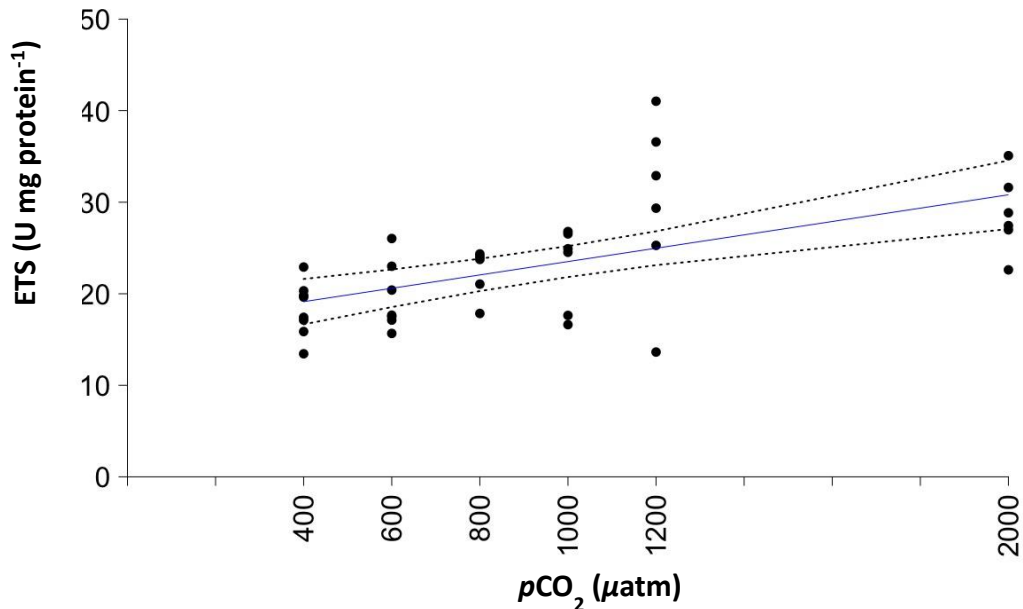


Fig. 12. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the ETS enzyme activity (U mg protein^{-1}) for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the ETS activity for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for the measure of cellular energy consumption is shown by the blue line (ETS prediction $\sim p\text{CO}_2 (\mu\text{atm})$) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

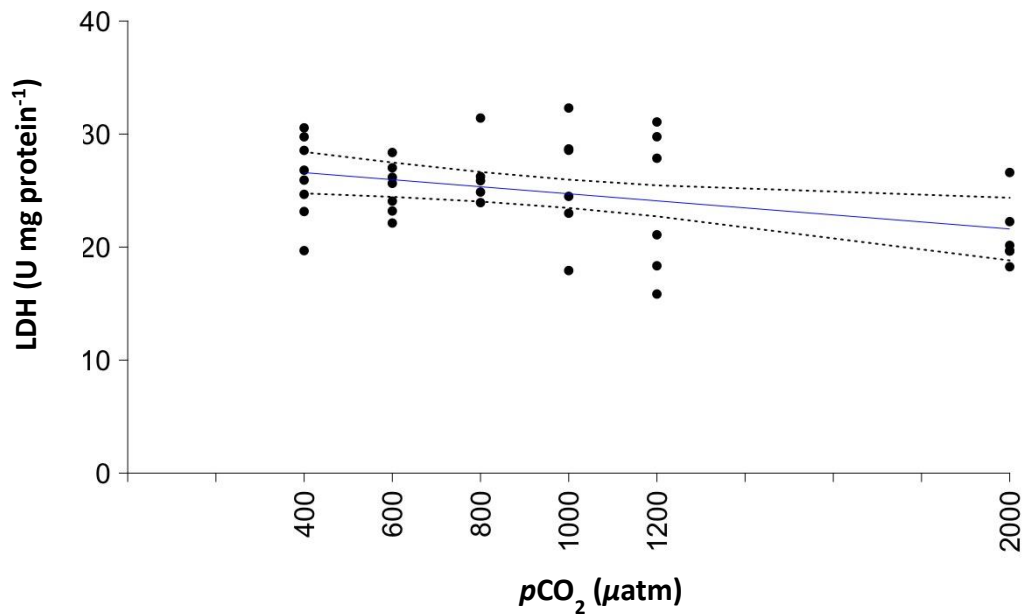


Fig. 13. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the LDH enzyme activity (U mg protein⁻¹) for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the LDH activity for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for the anaerobic energetic metabolism is shown by the blue line (LDH prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

For the same individuals, mean LDH activity was the lowest at the 400 μatm control $p\text{CO}_2$ level and highest at the 2 000 μatm $p\text{CO}_2$ level ($0. \pm 0.0$, $1. \pm 0.0$, respectively, see Table 2). The LDH activity decreased significantly, although slightly less steeply as the ETS activity ($F_{1,36} = 7.219$, $P = 0.0109$, $R^2 = 0.167$, Adjusted- $R^2 = 0.144$).

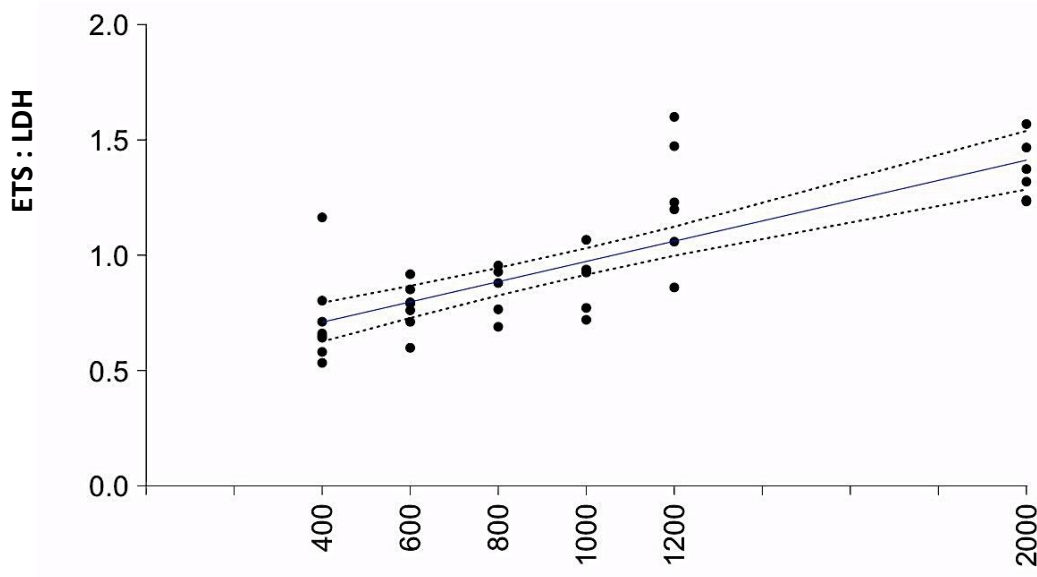


Fig. 14. The effect of exposure to different $p\text{CO}_2$ levels (μatm) on the ETS-LDH ratio for individual stage V lobster juveniles. The black dots represent the ETS-LDH ratio for each individual across $p\text{CO}_2$ levels. The linear model prediction for the mitochondrial/glycolytic enzyme ratio is shown by the blue line (ETS:LDH prediction $\sim p\text{CO}_2$ (μatm)) and the 95 % C.I. of the model by the dotted black lines.

Furthermore, the mean ETS-LDH ratio was the lowest at the 400 μatm control $p\text{CO}_2$ level and highest at the 2 000 μatm $p\text{CO}_2$ level (0.718 ± 0.0698 , 1.367 ± 0.0540 , respectively, see Table 2). The ratio staircased steadily, increasing with increasing $p\text{CO}_2$ level ($F_{1,36} = 59.809$, $P < 0.001$, $R^2 = 0.624$, Adjusted- $R^2 = 0.614$), which was best described by a linear regression (Fig. 12). The mean values among different $p\text{CO}_2$ levels confirmed the existence of a strong relationship between the ratio and the $p\text{CO}_2$ levels (see table 2).

1.4 DISCUSSION

This study investigates the life history (LHT) and physiological trait responses of juvenile American lobster individuals to a seven-level $p\text{CO}_2$ gradient ranging from 400 to 3000 μatm (pH: 8.1 – 7.1). The resulting impacts of increasing seawater $p\text{CO}_2$ on the LH and physiological traits were largely linear, with varying strengths across traits. In more detail, the relationships between increasing $p\text{CO}_2$ level and survival, development, and morphology may be explained by the observed increase in aerobic mitochondrial capacity relative to a decrease in anaerobic mitochondrial capacity alongside variable feeding rates (FR). Consequently, the juvenile lobster's inability to maintain and repair cellular systems under increasing $p\text{CO}_2$ conditions may be the mechanisms underpinning the negative impact of their survival and development. Ecological consequences under ocean acidification (OA) and carbon capture storage system (CCS) leakages are discussed for each trait, linking the future of benthic recruitment and the American lobster fishing industry.

1.4.1 IMPACT OF INCREASING SEAWATER $p\text{CO}_2$ LEVEL ON LHT

The probability of survival decreased by 24 % between the control and the CCS conditions at the highest $p\text{CO}_2$ level. This reduction in juvenile survival is a common occurrence among crustaceans exposed to elevated $p\text{CO}_2$ levels in the early life stages, such as the European lobster, *H. gammarus*, (Small *et al.*, 2016), the porcelain crab, *P. cinctipes* (Carter *et al.*, 2013; Ceballos-Osuna *et al.*, 2013), the edible crab, *Cancer pagurus* (Metzger *et al.*, 2007), and the blue king crab *Paralithodes platypus* (Long *et al.*, 2017). Similarly, post-larval stages reared in OA conditions (750 μatm) displayed a drop in survival of 18 %, which was best explained by the negative OA impacts on the ability to metamorphose successfully between the last larval stage and the post-larval stage (Waller *et al.*, 2016). Furthermore, the juvenile survival in this study is the lowest at CCS conditions, suggesting that juvenile lobsters are the most sensitive to stage-long exposure to seawater $p\text{CO}_2$ levels that exceed OA predictions. As seen before in juvenile American lobsters (McLean, 2016), the findings of our study translate to a prolonged

period of ecological vulnerability for the few surviving juveniles at high $p\text{CO}_2$ levels, with a developmental period prolonged by a maximum of 9 d at the highest $p\text{CO}_2$ levels.

While the total length of the juveniles remains unaffected by the exposure to increasing seawater $p\text{CO}_2$, the proportions of measured morphological traits differed significantly, although slightly, with increasing seawater $p\text{CO}_2$. Similarly, the carapace size of the juvenile blue king crab, *Paralithodes platypus*, was little affected by exposure to OA seawater $p\text{CO}_2$ levels, displaying slightly smaller carapace size at 1600 $\mu\text{atm } p\text{CO}_2$ conditions at specific developmental stages (Long *et al.*, 2017). Additionally, juvenile American lobsters exposed to elevated $p\text{CO}_2$ levels had a smaller percent increase in length, indicating that juvenile lobsters are smaller and grow at a slightly slower rate in early development at elevated $p\text{CO}_2$ conditions (McLean *et al.*, 2016).

Unlike the previous examples, the juvenile lobsters developing under elevated $p\text{CO}_2$ conditions in this study displayed no difference in total length. However, they displayed a slightly but significantly larger thorax relative to the abdomen, and appeared to possess a slightly smaller telson. The thorax is the region where critical structures, such as the respiratory system, the circulatory system, the primary digestive system, the reproductive organs, and the central nervous system, are located (Bliss, 1983). Because the thorax holds a major part of these fundamental systems and organs, it is an important region for respiration and gas exchange functions that help maintain acid-base balance, as well as for digestion, reproduction, and nervous system functions that are also imperative for the species survival. Furthermore, the abdomen and telson are important structures for swimming and manoeuvrability (Factor, 1995).

A reduction in the length of the latter two structures relative to enlarging the thorax may represent a trade-off in morphological proportions, perhaps in order to increase the gas-exchange capacity by enlarging the area responsible for maintaining adequate respiratory and cardiovascular functions, and thus enabling a more effective maintenance of internal homeostasis (Bliss, 1983). In fact, the juveniles of this study were able to maintain unchanged RMR across the entire $p\text{CO}_2$ gradient tested, which may be helped by the allocation of energy towards enlarging the thorax relative to the

abdomen and telson at high $p\text{CO}_2$ levels: see also section below on metabolic rates. Besides the compensatory effects of the enlarged thorax, shortening the abdomen and telson could have negative functional repercussions (e.g. on predator evasion) from an ecological point of view. A reduced abdomen length may also have important economical implication for the lobster fisheries, if these morphological patterns persist into adulthood.

Apparent stage IV and stage V post-larval and juvenile lobster vulnerabilities to elevated $p\text{CO}_2$ level exposure are supported by the negative impacts of OA and CCS conditions on the LHT of juvenile lobster, which appears to be explained by underlying physiological impacts (i.e. on metabolism and energetics).

1.4.2 IMPACT OF INCREASING SEAWATER $p\text{CO}_2$ ON METABOLISM AND FEEDING RATES

Resting metabolic rates (RMR) for juvenile lobster individuals was maintained across the seven-level seawater $p\text{CO}_2$ gradient. The ability to maintain RMR under elevated $p\text{CO}_2$ was also reported for larval American lobster (Waller *et al.*, 2016), larval Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (Wood *et al.*, 2014), and juvenile porcelain crabs, *Petrolisthes cinctipes* (Carter *et al.*, 2013) when exposed to future OA conditions of elevated temperature and seawater $p\text{CO}_2$. However, six-month old juvenile European lobsters, *Homarus gammarus*, displayed a reduction in metabolic rates in response to extremely elevated CCS $p\text{CO}_2$ levels of 9 000 μatm (Small *et al.*, 2016), a seawater $p\text{CO}_2$ level for which the effects are difficult to compare to the effects displayed at the most elevated CCS $p\text{CO}_2$ levels selected in our study.

The impacts of increasing seawater $p\text{CO}_2$ on metabolism appear to cause variable behavioural effects on feeding rates (FR). Initially, FR increase with increasing $p\text{CO}_2$ level, which was also seen in juvenile *H. americanus* at end-century $p\text{CO}_2$ levels (Waller *et al.*, 2016). At CCS $p\text{CO}_2$ levels of 2 000 and 3 000 μatm , FR decrease towards normal levels, an effect also seen in the juveniles of the American lobster (McLean *et al.*, 2016) and the European lobster (Small *et al.*, 2016) from exposure to CCS $p\text{CO}_2$ levels. Maintaining normal FR at the most elevated $p\text{CO}_2$ levels suggests that changes in other

functions or behaviours are prioritized above nutritional acquisition. Here, reducing FR to control-level rates at CCS $p\text{CO}_2$ levels can have two explanations; it is either not necessary to increase FR because nutritional requirements are satisfied, or, it is not possible because the energetic demand exceeds the energy availability at elevated $p\text{CO}_2$ levels, limiting digestive ability and prevents changes in feeding behaviour. It is possible that available energy (i.e. adenosine triphosphate, ATP) is allocated to mechanisms and behaviours responsible for maintaining RMR and FR at elevated $p\text{CO}_2$ levels at the cost of LHT and other behaviours, which is further supported by observed mitochondrial responses in our study that indicate possible compensatory effects at elevated $p\text{CO}_2$ levels.

Juvenile lobster exposure to increasing $p\text{CO}_2$ levels elicits a strong positive linear response on the enzymatic activity in the mitochondrial electron transport system (ETS) and a slightly weaker negative linear response on the lactate dehydrogenase (LDH) activity (Fig. 12 and 13, respectively). In marine species, ETS activity is often used as a proxy for energy consumption in aerobic respiration (Tonn *et al.*, 2016), and LDH is often used as a proxy for anaerobic glycolytic respiration (Kaplan and Pesce, 1996). Thus, the significant increase in ETS and decrease in LDH observed here with increasing $p\text{CO}_2$ level are indicative of energy metabolism acclimation described by a steep increase in aerobic cellular respiration capacity and a slight decrease in anaerobic glycolytic capacity in OA and CCS conditions. The resulting strong positive linear response of the ETS:LDH also reinforces this (Fig. 14), suggesting that a number of possible mitochondrial responses are taking place during the stage-long acclimation of juvenile lobsters to elevated $p\text{CO}_2$ levels. This is indicative of a strong energetic component in juvenile lobster survival at elevated $p\text{CO}_2$ levels.

In a study similar to this one that examined the effects of an end-century OA $p\text{CO}_2$ level (710 μatm) on the European lobster's larval stages, LDH and ETS activity were also measured as proxies for anaerobic energetic metabolism and energy expenditure, respectively (Rato *et al.*, 2017). The average LDH and ETS measurements in both treatments displayed a high level of variability and were not significantly different (Rato

et al., 2017). Nonetheless, it was presumed that energetic impacts might still have occurred in response to OA conditions. This may be due to a low level of resolution in the measurements that would have been required to accurately detect potential differences in ETS and LDH activity across treatments. It was also suggested that these potential energetic costs at the mitochondrial level might explain the growth reduction and the potential increase in oxidative stress in the specimens (Rato *et al.*, 2017). Perhaps because of species-specific differences, a greater amount of available tissue in stage V juveniles, and the fact that we used a $p\text{CO}_2$ gradient, the impacts of OA and CCS conditions on ETS and LDH enzyme activity were more easily detectable and relatively strong in comparison with Rato *et al.* (2017). Like European lobster larvae, the morphological changes in the abdomen, cephalothorax, and telson lengths of the juvenile lobsters in this study could also be due to an increase in energy demand at the mitochondrial level.

Further, OA and CCS impacts detected on the mitochondrial processes in the juvenile lobsters of this study may explain other observed impacts, especially on the maintenance of RMR with increasing $p\text{CO}_2$ level. For instance, it was suggested that metabolic energy reallocation towards physiological functions at OA $p\text{CO}_2$ levels (1 030 and 1 450 μatm) could explain smaller larval sizes in purple sea urchins, *Strongylocentrotus purpuratus* (Matson *et al.*, 2015). In the present study, the observed increase in the juvenile lobsters ETS activity (i.e. aerobic metabolism), indicates an increase in mitochondrial energetic capacity under elevated $p\text{CO}_2$ levels, and thus, energy allocation to physiological function. The upregulation in mitochondrial function comes at the cost of LHT, such as development speed, further supporting that there may be a loss of energy allocated to developmental functions at a higher level of complexity. This suggests that energy reallocation to physiological functions is likely necessary in OA and CCS conditions for the surviving individuals to maintain adequate RMR and acid-base equilibrium.

In order for calcifying organisms to compensate for the increased energetic demand at the elevated $p\text{CO}_2$ levels, an increase in aerobic metabolism through mitochondrial

capacity may be a necessary response to compensate for certain degrees of hypercapnia (Harms *et al.*, 2014). For example, Thomsen and Melzner (2010) examined the effects of elevated $p\text{CO}_2$ levels (1 120, 2 400, and 4 000 μatm) on the LHT and physiological traits of the blue mussel, *Mytilus edulis*. At elevated $p\text{CO}_2$ levels, aerobic metabolism was increased and shell growth was reduced. This implied that energy was reallocation to an increase in other physiological demand, at the cost of normal shell size (Thomsen and Melzner, 2010). Overall, this further demonstrates an insufficient energetic capacity in order to sustain normal physiological functions in calcifying species at elevated $p\text{CO}_2$ conditions.

In addition to energy reallocation in OA and CCS conditions, the increase of mitochondrial content in the juvenile lobsters suggest compensatory responses to increasing $p\text{CO}_2$ levels that may result from impaired mitochondrial capacity *and* a mitohormetic response at elevated $p\text{CO}_2$ levels. In such conditions, mitochondrial biogenesis can optimize respiration in cells experiencing oxidative stress (Lane *et al.*, 2011). In this sense, in order to maintain RMR despite this reduced energetic capacity of individual mitochondria (Mt), it is possible that a greater number of Mt were synthesized in order to meet the energy requirement imposed by the exposure to elevated $p\text{CO}_2$ (Valero, 2014).

Therefore, it is possible that mitochondrial biogenesis in the juvenile lobsters may allow for the optimization of the RMR while reducing oxidative stress. This increase in mitochondrial numbers may therefore be an adaptive response, mitohormesis, triggered by increased ROS production at elevated $p\text{CO}_2$ levels (Schulz, 2007; Ristow and Schmeisser, 2014).

Mitohormesis can increase an organism's resistance to exogenous or endogenous stressors through differential gene expression (Yun and Finkel, 2014). Oxidative stress generated by elevated ROS production is known to trigger such responses (Ristow and Schmeisser, 2014; Stern *et al.*, 2017). Therefore, in spite of potentially harmful oxidative stress at elevated $p\text{CO}_2$ levels, the onset of mitohormetic responses, in the form of

mitochondrial biogenesis in this study, likely culminated to the survival of some juvenile lobster individual in OA and CCS conditions.

Mitohormesis could potentially mediate a species ability to acclimate physiologically to the stressful $p\text{CO}_2$ conditions. For instance, metabolism-related genes and ETS activity were also upregulated in adults Arctic spider crab, *Hyas araneus*, that were exposed to elevated OA conditions (1 120 and 1 960 μatm), while the harmful effects of oxidative stress and the inability to maintain acid-base equilibrium were reflected progressively with increasing $p\text{CO}_2$ levels (Harms *et al.*, 2014). Up to a certain $p\text{CO}_2$ level threshold, the genetic mitochondrial response to oxidative stress, also seen in eastern oysters, *Crassostrea virginica* (Tomanek *et al.*, 2011), may be an effective compensatory mechanisms in order to meet the energetic demand associated to acid-base processes (Harms *et al.*, 2014). In this study, it appears that the increase in $p\text{CO}_2$ levels likely induces similar modifications of genetic expression involved in fundamental processes in the energetic metabolism of the juvenile lobsters at elevated OA and CCS conditions. These modifications brought on by mitohormesis may be directly responsible for increasing mitochondrial biogenesis that compensates for the functional loss of individual Mt due to elevated oxidative stress. Ultimately, mitohormesis might be enabling the survival of some juvenile lobsters at elevated $p\text{CO}_2$ levels.

The observed impacts on mitochondrial function seen in this study could reflect the high energetic costs that are associated with acid-base regulation at elevated $p\text{CO}_2$ levels (Pörtner and Bock, 2000). For example, adult oysters, *Crassostrea gigas* (Lannig *et al.*, 2010), and larval porcelain crabs, *Petrolisthes cinctipes* (Carter *et al.*, 2013) displayed decreased levels of available ATP at elevated $p\text{CO}_2$ levels which was potentially due to the struggle to maintain acid-base equilibrium in the OA conditions. In unfavourable environmental conditions such as OA and CCS leakages, it is sometimes necessary to reduce metabolic rates or undergo metabolic depression in order to preserve energy for maintaining homeostasis (Guppy and Withers, 1999; Pörtner *et al.*, 2004, Melatunan *et al.*, 2011; Pörtner *et al.*, 2011), *e.g.* acid-base equilibrium in crustaceans (Whiteley, 2011). However, at elevated OA and CCS $p\text{CO}_2$ levels, our study demonstrates the

opposite effect in juvenile American lobsters. An increase in energetic capacity seems to compensate for $p\text{CO}_2$ impacts, rather than a decrease in energetic metabolism to preserve energy (Pörtner *et al.*, 2004). Together with negative impacts on the life history traits with increasing seawater $p\text{CO}_2$ levels, the cost of mitohormesis seems to be necessary for maintaining two main processes in stage V juvenile lobsters: normal RMR and carapace mineral content. Unfortunately, beyond intermediate $p\text{CO}_2$ levels used in this study, this response may be too energetically expensive, becoming lethal for the majority of stage V juvenile lobsters at the most elevated $p\text{CO}_2$ levels.

The maintenance of RMR across the seven-level gradient of seawater $p\text{CO}_2$ was perhaps also aided by the increased thorax size (as discussed above) as well as the stabilization of energetic capacity in the Mt. The effects of increasing $p\text{CO}_2$ levels on the FR and the ETS:LDH suggest that there is a potential energetic threshold in juvenile American lobsters, further supporting that physiological energy requirements are the key to understanding the impacts of exposure to elevated $p\text{CO}_2$ levels on the life history traits (LHT) of stage V American lobster juveniles.

1.4.3 CARAPACE MINERAL CONTENT IMPACTS UNDER INCREASING $p\text{CO}_2$ CONDITION

Exposure to increasing $p\text{CO}_2$ conditions resulted in a positive linear response in $[\text{Mg}^{2+}]$ only, while no other ions revealed any apparent impacts under elevated $p\text{CO}_2$ conditions. A similar response in carapace $[\text{Mg}^{2+}]$ occurred in the chelae of adult velvet swimming crab, *Necora puber*, which was explained by a possible increase in the relative proportion of aragonite in the chelae (Small *et al.*, 2010). Similarly, impacts observed on the juvenile *H. americanus* carapace could be associated with an increase in Mg-rich aragonite or calcite (not measured here), potentially making the carapace more susceptible to dissolution at high $p\text{CO}_2$ levels (Martin *et al.*, 2010). In contrast, exposure to elevated $p\text{CO}_2$ levels has been associated with a decrease in $[\text{Mg}^{2+}]$ in European lobster larvae (Arnold *et al.*, 2009; Agnalt *et al.*, 2013) and juveniles (Small *et al.*, 2016) further supporting specie-specific impacts of high $p\text{CO}_2$ levels on carapace ion composition in early crustacean development (e.g. Kröcker *et al.*, 2010; Pistevos *et al.*,

2011; Keppel *et al.*, 2012). Moreover, the possibility that the juvenile lobsters in our study have a Mg-rich carapace at elevated $p\text{CO}_2$ levels may prevent the juveniles from having a strong carapace with the right shape over the course of development. The higher risk for morphological abnormalities associated with elevated seawater $p\text{CO}_2$ level, also seen in the European lobster (Agnalt *et al.*, 2013), would negatively affect fundamental structural functions related to the carapace, claws, and walking legs. This could translate to negative effects associated with an Mg-rich carapace on crucial ecological functions that rely on carapace structure and hardness, such as respiration, food acquisition, mobility, and defense of juvenile *H. americanus*.

1.4.4 CONCLUSION

To conclude, besides the evident potential of fewer surviving American lobster recruits with slower developmental rates, increasing seawater $p\text{CO}_2$ has the capacity to alter morphological proportions, feeding behaviour, energetic capacity and energy allocation, likely in attempts to sustain fundamental mechanisms necessary for survival. Relative to OA, CCS leakage implications on juvenile lobsters display the most serious biological threats, foreshadowing a high-risk potential on early lobster life history if CCS systems were to be constructed in the North-West Atlantic shores near American lobsters habitats. By preventing the successful completion of consecutive developmental phase (Byrne, 2013), the negative impacts of stage-long exposure to increasing seawater $p\text{CO}_2$ on juvenile lobster survival would threaten the species recruitment success over time (Byrne, 2013). Thus, the implication of the exposure to OA and CCS leakages on lobster juveniles may negatively reduce future population abundances along American and Canadian shores. Moreover, this study provides insight on the responses of juveniles used for stock enhancement to extreme pH fluctuation events in today's benthic coastal ecosystems. By incorporating the potential of low pH impacts on American lobster recruitment, it is possible to better predict population variability and pH vulnerability hot-spots along the North-West Atlantic coast. This could

significantly improve the future plans for stock enhancement projects and better prepare local fishermen for the future of the crucial Canadian crustacean.

DISCUSSION

Les relations entre les sept niveaux de $p\text{CO}_2$ avec les réponses biologiques des individus de homards juvéniles au stade V étaient principalement linéaires, ayant des effets plus marqués sur la survie et le budget énergétique. Les impacts de la $p\text{CO}_2$ indiquent une incapacité énergétique de maintenir les processus cellulaires nécessaires pour la réparation et le maintien des mécanismes homéostatiques critiques. Les effets de l'augmentation de $p\text{CO}_2$ pourraient avoir des conséquences écologiques majeures qui seront discutées pour chaque trait d'histoire de vie (THV) et trait physiologique examinés. Ces conséquences reflètent les variations de survie des recrues juvéniles suite à une augmentation de la $p\text{CO}_2$ marine prédite dans différents scénarios futurs (AO), actuels (fluctuations naturelles qui deviennent plus fréquentes), et potentiels (fuites de systèmes de CSC). Les conséquences potentielles de la $p\text{CO}_2$ élevée seront discutées dans la perspective de l'industrie de la pêche du homard américain.

IMPLICATIONS DE L'AUGMENTATION DE LA $p\text{CO}_2$ / DIMINUTION DU PH SUR LES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE ET LA COMPOSITION MINERALE DE LA CARAPACE

Les post-larves au stade IV soumises à un gradient de $p\text{CO}_2$ élevés avaient une réponse linéaire de la survie et de la durée de développement, qui ont diminué d'environ 25 % et augmenté d'environ 10 jours, respectivement, à la $p\text{CO}_2$ la plus élevée (3000 μatm). Dans les premiers stades de vie chez les crustacés, la réduction de la survie et la prolongation du développement à des $p\text{CO}_2$ élevées sont deux phénomènes déjà démontrés chez le crabe royal bleu, *Paralithodes platypus* (Long *et al.*, 2017), et le crabe porcelaine, *Petrolisthes cinctipes* (Carter *et al.*, 2013; Ceballos-Osuna *et al.*, 2013), ainsi que chez les juvéniles (stade V) de homard américain (McLean *et al.*, 2016). À l'inverse, les larves du homard américain ne montraient aucun effet de la $p\text{CO}_2$ sur la survie et la

durée du développement (Waller *et al.*, 2016) soutenant que les premiers stades de vie n'ont pas une sensibilité comparable à travers les différents stades de développement. Certains stades semblent clairement plus vulnérables que d'autres (Small *et al.*, 2015; Long *et al.*, 2016). Nos résultats identifient le stade post-larvaire (IV) comme un stade sensible à l'augmentation de la $p\text{CO}_2$, nuisant potentiellement le stade de vie suivant. Relativement peu d'individus du stade V ont réussi à survivre et ils ont mis plus longtemps à muer pour atteindre le stade subséquent de développement. Ceci aurait alors des implications écologiques négatives sur la progression du développement d'un grand nombre d'individus. La prolongation de cette phase de développement aurait potentiellement des conséquences écologiques négatives puisque les individus seraient soumis à la prédation par des organismes benthiques pendant une période de vulnérabilité plus longue (Lavalli et Bradshaw, 1986).

La taille du telson a significativement diminué suite à l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ et un changement de la proportion entre le céphalothorax et l'abdomen a été observé: le céphalothorax devenant plus long relativement à l'abdomen. Le thorax est une structure fondamentale pour la respiration. Elle contient des organes vitaux alors que le telson et l'abdomen sont des structures indispensables à la fuite face aux prédateurs, la défense, la mobilité, la recherche de nourriture, et la nage (Factor, 1995). La réduction de la taille du telson et de l'abdomen suggère une réduction de la mobilité des stades V et possiblement des stades successifs si les effets négatifs dépassent se perpétuent sur les phases successives de développement.

D'autre part, l'allongement du céphalothorax avec l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ suggère un effet morphologique compensatoire de la soumission à la $p\text{CO}_2$ élevée. Certaines espèces calcifiantes peuvent répondre à une augmentation de $p\text{CO}_2$ soit par une dépression métabolique (e.g. Barnhart et McMahon, 1988; Reipschlager *et al.*, 1997) ou par des ajustements acido-basique (Wheatly et Hardy, 1992; Calosi *et al.*, 2013). Dans cette étude, il n'y a aucune indication de réduction métabolique, et aucun test n'a été effectué pour démontrer un effet direct sur la capacité de régulation acido-basique. Cependant, puisqu'il est déjà connu que la $p\text{CO}_2$ élevée a des effets

perturbateurs directs sur la régulation acido-basique des crustacés décapodes marins (Whitely, 2011), il est présumé qu'il y a des impacts négatifs sur l'homéostasie acido-basique chez les post-larves de cette étude. L'allongement du céphalothorax entrainerait une augmentation potentielle de la surface de branchies dédiées à la régulation acido-basique, ce qui augmenterait l'efficacité de la ventilation et de la circulation interne chez ces individus (Bliss, 1983). Conséquemment, cela devrait garantir un apport plus rapide et plus important d'oxygène dans le système circulatoire, ce qui devrait, par défaut, permettre une expulsion autant plus efficace de CO_2 chez l'individu. Donc, la l'allongement du céphalothorax chez des individus soumis à des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée semblent être une réponse plastique à la perturbation interne, ce qui compenserait pour les couts énergétiques nécessaires au maintien de l'homéostasie.

Continuant avec la structure de la carapace, la composition d'éléments est demeurée constante avec l'augmentation de la $p\text{CO}_2$, sauf pour les ions de Mg^{2+} , dont la concentration a augmenté linéairement. Cette réponse a aussi été vu à des niveaux entre 2 500 et 22 000 μatm de $p\text{CO}_2$ chez le crabe, *Necora puber*, où il y a eu une augmentation de la proportion de magnésium dans la carapace. La formation d'une carapace contenant plus de Mg^{2+} augmente le risque de corrosion de la carapace car la remplacement des ions Ca^{2+} par les ions Mg^{2+} dans les structures calcaires les rendent plus solubles (Small *et al.*, 2010). Il a d'ailleurs été montré chez des espèces taxonomiquement proches que plus la calcite contient du magnésium plus elle est soluble et des taux de dissolution net sont observés dans des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée (Martin *et al.*, 2010; Noisette *et al.*, 2013). Les juvéniles de notre étude pourraient ainsi avoir une sensibilité plus grande à la dissolution à des niveaux élevés de $p\text{CO}_2$.

Par opposition, l'exposition à des $p\text{CO}_2$ élevées causait une réduction du Mg^{2+} chez des larves du homard européen (Arnold *et al.*, 2009; Agnalt *et al.*, 2013), renforçant la proposition que certaines réponses biologiques à l'augmentation de $p\text{CO}_2$ sont spécifique à l'espèce et au stade de développement. La vulnérabilité de la carapace que peut causer l'augmentation des ions Mg^{2+} dans un environnement à $p\text{CO}_2$ élevé pourrait

augmenter la probabilité de malformation structurelle de celle-ci pendant les premiers stades juvéniles puisque la formation de la coquille ne se complète pas, un phénomène courant chez le homard européen (Agnalt *et al.*, 2013).

Les effets de l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ sur les THV, pouvant nuire à la progression développementale vers le stade adulte à travers des perturbations de fonctions écologiques importantes, semblent provenir à la base des effets sur le métabolisme, le fonctionnement des mitochondries, et l'alimentation.

IMPLICATION DE L'AUGMENTATION DE LA $p\text{CO}_2$ / DIMINUTION DU PH SUR LE METABOLISME ET LA CONSOMMATION DE NOURRITURE

Les taux métaboliques au repos (TMR) n'ont pas été affectés par l'augmentation de la $p\text{CO}_2$. La respiration est peut-être maintenue grâce à deux facteurs : l'augmentation de la taille du céphalothorax, mentionnée ci-dessus, et un ajustement de la capacité aérobie exprimé par la réponse linéaire de l'activité enzymatique de la chaîne de transport d'électron (ETS) et de la lactate déshydrogénase (LDH), ainsi que du ratio de entre ceux-ci (ETS : LDH). Le taux d'alimentation (TAL) est également variable avec l'augmentation de la $p\text{CO}_2$, montant aux niveaux intermédiaires de $p\text{CO}_2$ et redescendant aux niveaux extrêmes. Les impacts de l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ sur la survie, le métabolisme, et le comportement alimentaire suggèrent qu'il y a un seuil énergétique chez les post-larves qui se déclenche à partir de niveaux intermédiaires de $p\text{CO}_2$ élevée. Il est crucial de comprendre les implications des mécanismes physiologiques qui sont à la base des traits d'histoire de vie afin d'établir les mécanismes responsables des effets observés (Pörtner, 2008).

La conservation du taux métabolique à $p\text{CO}_2$ élevée vue dans cette étude est un phénomène courant chez les crustacés et dans différentes phases de développement : les larves du homard Américain (Waller *et al.*, 2016) et Norvégien, *Nephrops norvegicus* (Wood *et al.*, 2014), et des crevette adultes, *Upogebia deltaura* (Donohue *et al.*, 2012).

Dans des conditions de fuite de CSC à $p\text{CO}_2$ très élevé (9 000 μatm) chez les juvéniles du homard européen, le taux métabolique s'était maintenu. Par contre, à un niveau intermédiaire de la $p\text{CO}_2$ aux alentours de 1 100 μatm , le taux métabolique avait diminué (Small *et al.*, 2016). À des niveaux très élevées de la $p\text{CO}_2$ qui reflètent une fuite de CSC, la conservation du TMR des juvéniles suggère que l'énergie disponible, c'est à dire l'ATP disponible, est probablement utilisée par la respiration, peut-être au prix de la survie de l'individu. Le maintien du TMR à $p\text{CO}_2$ élevée peut être expliqué en partie par les réponses mitochondriales du ETS, LDH, et ETS : LDH observées dans cette étude.

L'augmentation progressive de l'activité du ETS avec l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ reflète une augmentation de la capacité aérobie générale des mitochondries dans les tissus des homards juvéniles suite à l'exposition à des conditions d'AO ou de CSC. Quant à la diminution progressive de l'activité du LDH, celle-ci reflète une diminution de la glycolyse anaérobie avec l'augmentation de la $p\text{CO}_2$. Donc, l'augmentation du ratio ETS : LDH avec l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ montre qu'il y a une prédominance d'aérobie mitochondriale relatif à l'anaérobie chez les homards juvéniles.

Chez d'autres organismes calcifiants, une augmentation de l'énergie disponible au niveau mitochondrial semble être une réponse au niveau physiologique à des niveaux de $p\text{CO}_2$ élevés afin de tenter de maintenir un équilibre acido-basique (Pörtner *et al.*, 2004). Par exemple, chez les larves du homard européen (Rato *et al.*, 2017), les crabes araignées adultes (Harms *et al.*, 2014), les larves d'oursin pourpre (Matson *et al.*, 2015), et l'huitre américaine adulte (Tomanek *et al.*, 2011), l'augmentation de la capacité aérobie au niveau mitochondrial à $p\text{CO}_2$ élevée semble être prioritaire pour le maintien de l'équilibre acido-basique. Par opposition, le maintien des THV ne semble pas être prioritaire chez plusieurs d'espèces calcifiantes dans ces conditions. Chez les homards américains juvéniles de cette étude, le ralentissement du développement et, ultimement, la baisse importante de la survie semblent être le coût du maintien de l'homéostasie et du RMR.

La réponse d'acclimatation à la $p\text{CO}_2$ élevée n'est pas présente au niveau respiratoire par les TMR, mais elle est présente comme effet compensatoire de la

performance des mitochondries par une augmentation de la capacité de l'ETS et une diminution de la capacité du LDH. C'est alors que le maintien de la capacité respiratoire aérobie semble être assurée en partie par l'augmentation de la capacité mitochondriale. Donc, nous pouvons déduire que la performance individuelle des mitochondries est plus faible dans les conditions d'AO et de CSC que dans les conditions contrôles. Cela suggère qu'il y a peut-être un plus grand nombre de mitochondrie qui fonctionne ce qui compense pour la perte de fonctionnalité individuelle et permet quand même l'augmentation de la capacité aérobie.

Cette réponse adaptative à la $p\text{CO}_2$ élevée par une augmentation de la synthèse de mitochondrie s'intitule mitohormésis : une réponse génétique aux stress externes et internes, à des niveaux élevés de ROS, qui augmente la résistance d'un organisme (Valero, 2014; Yun and Finkel, 2014). Ceci est aussi une indication de stress oxydatif chez les homards juvéniles à $p\text{CO}_2$ élevée (Ristow and Schmeisser), suggérant également qu'il y a un impact génétique au niveau mitochondrial du stress oxydatif associé à la réponse à l'augmentation de la $p\text{CO}_2$. Il est possible que ce stress oxydatif ait endommagé les mitochondries à $p\text{CO}_2$ élevée chez les homards américain juvéniles et que cette conséquence soit alors responsable pour la diminution de la capacité individuelle des mitochondries (Stern *et al.*, 2017).

Le phénomène mitohormétique par une augmentation de la synthèse de mitochondries a aussi été vu chez les crabes araignées à $p\text{CO}_2$ élevée (1 120 et 1 960 μatm) dans une étude par Harms *et al.* (2014), où il a aussi été observé une augmentation de la capacité aérobie mitochondriale à $p\text{CO}_2$ élevée. De plus, les crabes ont probablement subi du stress oxydatif, comme les homards juvéniles de notre étude, ce qui était indiqué par une augmentation de l'expression de gènes associés à la défense antioxydatif (Harms *et al.*, 2014).

Le changement de la $p\text{CO}_2$ semble entraîner des modifications importantes de l'organisation des voies du métabolisme énergétique chez les crustacés, notamment chez le homard américain juvénile à $p\text{CO}_2$ élevée. Les marqueurs de stress oxydatif pourraient être examinés afin d'appuyer cette affirmation. Chez les survivants, dans les

conditions les plus extrêmes, les mitochondries semblent fonctionner moins bien. Cependant, il y en a en plus grand nombre pour compenser le stress physiologique à $p\text{CO}_2$ élevées ainsi que le maintien de l'homéostasie et d'un niveau standard du taux métabolique (TMR). La réponse mitohormétique, qui serait à base génétique, permettrait peut-être la survie de quelques individus exposés à des conditions létales de CSC à partir de 2 000 μatm . Ceci souligne l'importance des impacts internes et des modifications énergétiques physiologiques afin d'expliquer les effets de la $p\text{CO}_2$ élevée sur les THV et de la survie au premier stade benthique du homard américain.

L'augmentation du TAL à $p\text{CO}_2$ intermédiaires (entre 600 et 1 200 μatm) chez les homards juvéniles pourrait refléter le déclenchement d'un mécanisme compensatoire capable de contrebalancer le manque d'énergie disponible dans des conditions d'AO et de fluctuation côtières. À 2 000 et 3 000 μatm , des conditions de fuites de CSC, le taux d'alimentation diminue de nouveau, indiquant un seuil énergétique empêchant le changement de comportement alimentaire. Un phénomène connu qui est associé à des conditions de pH bas est l'amplification des effets négatifs sous conditions de nourriture insuffisante. Thomsen *et al.* (2009) a démontré que la disponibilité de nourriture était le principal facteur limitant de la production de biomasse et de calcification chez la moule bleu, *Mytilus edulis*. L'opposé est aussi vrai chez les juvéniles de la coquille Saint-Jacques, *Pecten maximus*, qui montraient une tolérance supérieure au niveau maximal d'AO de 1 140 μatm quand la nourriture était disponible à volonté (Sanders *et al.*, 2013). Ceci suggère qu'avec la disponibilité de la nourriture détermine la disponibilité énergétique selon leur TAL dans des conditions d'AO, sauf à des niveaux de fuites de CSC.

Une hausse du taux d'alimentation de juvénile de homard américain a également été observé à des niveaux de $p\text{CO}_2$ intermédiaires à 750 μatm qui sont représentatifs du niveau océanique à la fin du 21^e siècle (Waller *et al.*, 2016), alors qu'il y a eu une baisse du taux d'alimentation chez les homards juvéniles européens à des niveaux de $p\text{CO}_2$ élevés représentatifs de fuites de CSC à 9 000 μatm (Small *et al.*, 2016). Dans cette étude, la conservation de taux bas d'alimentation à $p\text{CO}_2$ élevé représentatifs

de fuites de CSC est indicatif de deux possibilités : soit le besoin nutritif est atteint et un changement du comportement n'est pas nécessaire, soit le besoin nutritif n'est pas atteint mais la disponibilité énergétique ne permet pas une augmentation de l'alimentation.

L'impact énergétique aux niveaux élevés de la $p\text{CO}_2$ semble être le compromis nécessaire pour conserver le taux de respiration, la composition en minéraux de la carapace, et la survie jusqu'à ce que la demande énergétique naturelle devienne trop élevée (par exemple, pendant la mue). Les résultats obtenus fournissent des connaissances indispensables pour la prédiction de la variation du recrutement face à des événements de $p\text{CO}_2$ élevés, en approfondissant la compréhension des coûts énergétiques de la survie des recrues juvéniles.

Il y a une forte probabilité de migration nordique chez le homard américain afin de s'éloigner de régions qui dépassent la limite thermique de l'espèce à cause du réchauffement (Pörtner, 2008; Somero, 2009; Rubal *et al.*, 2013). En migrant vers le nord afin de trouver des températures plus favorables, les femelles gravides relâcheraient leurs larves dans des eaux présentant un pH beaucoup plus bas comparé à leur habitat précédent (Orr *et al.*, 2005). Étant donné l'effet qu'a la latitude sur le pH, il est possible que l'AO limite l'extrémité nord de la migration causée par la température du crustacé si les effets observés continuent à être présents à travers le développement jusqu'à la phase adulte (Calosi *et al.*, 2017).

Si la physiologie de l'espèce permet sa migration dans les conditions futures de pH dans des eaux plus au nord (Calosi *et al.*, 2013), les activités qui dépendent de la ressource (par exemple : la pêche) devront suivre la population vers le nord. De plus, le futur succès de ces activités devra prendre en compte les différents degrés d'impacts négatifs du pH bas sur la dynamique et la structure des populations d'invertébrés marins (Hale *et al.*, 2011, Christen *et al.*, 2013), en particulier sur le homard Américain (cette étude) et d'autres espèces calcifiantes d'importance économique : le crabe et les crevettes, par exemple. Les effets observés après l'exposition aux niveaux élevés de la $p\text{CO}_2$ pendant le stade post-larvaire indiquent qu'il y a une vulnérabilité particulière qui

se transmet potentiellement aux stades suivant. Les conséquences de ceci sur l'énergie disponible pour les structures, comportements et mécanisme de défense, motilité, et de santé pourraient être grave pour la persistance de la population à pH bas. Les nuances écologiques potentielles examinées dans cette étude suite à l'exposition de longue durée à $p\text{CO}_2$ élevé du stade post-larvaire suggèrent qu'il pourrait avoir des conséquences sur la survie des recrues libérées d'écloserie ainsi que sur les recrues sauvages touchées par une fuite de CSC si elle se faisaient construire dans l'Atlantique nord-ouest.

IMPLICATIONS POTENTIELLES DE L'AUGMENTATION DE LA $p\text{CO}_2$ / DIMINUTION DU PH SUR LES COMMUNAUTÉS DE PECHE

L'industrie du homard Américain constitue une portion importante des exportations de 6.6 milliards de dollars de l'industrie de fruits de mer en 2016 au Canada (source : « Faits sur les Pêches Canadienne », Ministère des Pêches et Océans) et de plus de 40 000 000 de tonnes de homards pêchés au Etats-Unis (source : Wahle *et al.*, 2011). Dernièrement, avec un risque élevé d'un déclin de la population future du homard américain dans les régions atlantiques des deux pays (Stenneck et Wilson *et al.*, 2001; Comeau *et al.*, 2004), les connaissances de base sur la biologie de l'espèce sont à la fois parcellaires et insuffisantes pour prédire l'avenir des stocks dans un contexte de changement global (Wahle, 2003). D'après les effets drastiques observés sur le budget énergétique des juvéniles, notre étude apporte des renseignements préliminaires sur la réponse biologique de la première phase de recrutement juvénile à un gradient de pH qui correspond à des événements extrêmes et modérés de $p\text{CO}_2$ élevé. Ceci constitue un premier indice des potentielles conséquences futures du pH bas sur les communautés de pêche basant leur activité sur la pêche au homard.

Le succès du processus de fixation, autant que la quantité d'individus qui alimente le recrutement, sont des éléments capitaux pour la détermination de la santé

des communautés benthiques juvéniles (Raimondi, 1990; Schmitt et Holbrook, 1999). Les impacts sur les traits d'histoire de vie et la physiologie des post-larves sont un premier pas vers la compréhension des réponses biologiques pendant une phase de développement qui représente une transition critique aux communautés benthiques chez le homard. Le taux de survie pendant cette phase de transition pourrait aider à comprendre la distribution et l'abondance des recrues au stades V (Jentsch *et al.*, 2007) dans un contexte d'AO et de fuite de CSC, tout dépendant des conditions locales présentes. De plus, le taux de survie de ces premières recrues aideraient à déterminer le succès de la progression vers la phase de développement qui contribue éventuellement à la population qui peut être récolté par les pêcheurs (Pezzack *et al.*, 1992; Hunt et Scheibling, 1997).

Malgré ces premiers pas, il est difficile de prédire directement l'avenir des stocks en connaissant des facteurs qui sont peut-être responsable de la variation du recrutement à $p\text{CO}_2$ élevé dans la nature. Puisque les homards pêchés sont âgé d'au moins cinq ans (Wahle, 2003), cela sépare le premier stade de recrutement et le stade de récolte de plusieurs années et donc de plusieurs événements perturbateurs autres que la $p\text{CO}_2$. Afin de faire des prédictions plus facilement, il faudrait mieux comprendre les fluctuations annuelles par classe d'âge de homards et d'examiner les effets reportés à travers le développement (Wahle, 2003). Cependant, si les effets biologiques négatifs sur le homard progressent jusqu'à la phase adulte, il est possible qu'il y ai ultimement des impacts négatifs sur la valeur nette et les revenus de la récolte (Falkenberg et Tubb, 2017). Certes, l'AO et des fuites de CSC auraient le pouvoir d'affecter indirectement le bien-être des communautés côtières qui dépendent sur le homard américain et d'autres crustacés (Onofri et Pald, 2017).

Les impacts socio-économiques sur la pêche du homard seront probablement très localisés (Onofri et Pald, 2017) et les plus forts sont prévus dans les régions les plus au nord ayant des eaux plus froides (Ekkstrom *et al.*, 2015). Cet aspect les rendent encore plus difficile à prévoir puisque la modélisation est habituellement faite à l'échelle globale et non locale, et surtout dans des pays en voie de développement (Cheung *et*

al., 2010; Daiju *et al.*, 2011; Fernandes *et al.*, 2013; Onofri et Pald 2017). L'impact étudié ici ne suffit pas pour évaluer les impacts locaux et régionaux du bas pH sur le développement à travers le cycle de vie du homard Américain jusqu'à sa récolte par les pêcheurs.

D'après le rapport de la commission du Homard Maritime (2013), la baisse des prix du homard force les pêcheurs à prioriser des hauts volumes de débarquement plutôt qu'une bonne qualité de pêche afin de répondre aux exigences de l'industrie (figure 13). Cette pression dépend d'une disponibilité abondante du homard, ce qui est en péril face aux changements globaux, au réchauffement, et autres effets environnementaux défavorables qui sont capables de changer la distribution et l'abondance d'une ressource marine vivante (Stortini *et al.*, 2017).

Dans le nord du Pacifique, plus précisément dans le golf d'Alaska, les populations de crevettes du Pacifique nord risquent de s'effondrer avec la forte progression d'AO, provoquant la prise de conscience du problème de l'AO sur les crustacés de la région (Mathis *et al.*, 2015). Cependant, les effets biologiques du pH bas sur le homard Américain pendant les premiers stades de vie, soit les phases larvaires et juvéniles sont une nouvelle priorité scientifique (Keppel *et al.*, 2012; McLean *et al.*, 2016; Waller *et al.*, 2016) à cause de leurs impacts inconnus mais potentiellement sévère sur le futur des pêcheries.

C'est alors que dans certains secteurs de pêche nord-américain dans l'Atlantique, le déclin possible de l'abondance du homard américain face au changement global et autres événements de pH bas devient une priorité de l'industrie afin d'instaurer une industrie durable et viable. Due à leur dépendance financière, culturelle, et familiale sur ce crustacé (Thériault *et al.*, 2013), les communautés de pêches sont autant vulnérables que leurs ressources marines précieuses (Ekkstrom *et al.*, 2015) à la $p\text{CO}_2$ élevée. Il est alors impératif d'évaluer les effets indirects de la $p\text{CO}_2$ élevée bas sur l'industrie du homard américain afin de mieux évaluer les risques potentiels de fuites de systèmes de CSC et de mettre en place des solutions d'adaptation face au changement global dans les provinces dont l'économie gravite autour de cette ressource culturelle (Figure 5).



Figure 15. Pêcheurs de homard dans les maritimes Canadien qui préparent leurs matériels pour la saison (Source : « Report of the Maritime Lobster Panel », Thériault *et al.*, 2013)

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans l'Atlantique Canadien et Américain, la compréhension des effets du pH bas / de la $p\text{CO}_2$ élevée sur progression du développement aux phases les plus sensibles, particulièrement de la survie pendant le recrutement, est essentielle. C'est en combinant des études sur différentes étapes du cycle de vie qu'on pourrait aller vers une modélisation à fine échelle pour peut-être pouvoir prédire le future des stocks de homards et mettre en place de potentiels solutions d'adaptation. À travers des innovations de gestion et d'organisation de la pêche, ces connaissances seraient cruciales pour que les communautés côtières soient prêtes face aux changements et impacts potentiels des changements globaux sur leur ressource économique. En améliorant les relations entre les différents acteurs de la ressources : les pêcheurs, le gouvernement, et les scientifiques, il serait plus facile de prendre en compte la parole des premiers et de vulgariser les résultats des derniers tout en faisant comprendre aux

industriels où se trouvent leur intérêt pour avoir une ressource de qualité et d'abondance optimal.

BIBLIOGRAPHIE

- Addison, J. T. and Bannister, R. C. A.** (2014). Re-Stocking and Enhancement of Clawed Lobster Stocks : A Review. *Crustaceana*. **67** (2), 131–155.
- Agnalt, A. L., Grefsrud, E. S., Farestveit, E., Larsen, M. and Keulder, F.** (2013). Deformities in larvae and juvenile European lobster (*Homarus gammarus*) exposed to lower pH at two different temperatures. *Biogeosciences*. **10**, 7883–7895.
- Aiken, D. E. and Waddy, S. L.** (1986). Environmental influence on recruitment of the American lobster, *Homarus americanus*: a perspective. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**, 2258–2270.
- Anger, K.** (2001). Ecology and behavior. In *The Biology of Decapod Crustacean Larvae*, pp. 261–314. Ed. by K. Anger. AA Balkema publishers, Lisse. pp. 262.
- Aquila, H., Link, T. A., Klingenberg, M.** (1987). Solute carriers involved in energy transfer of mitochondria from a homologous protein family. *Rev. Lett.* **212** (1): 1-9.
- Arnberg, M., Calosi, P., Spicer, J. I., Tandberg, A. H. S., Nilsen, M., Westerlund, S. and Bechmann, R. K.** (2013). Elevated temperature elicits greater effects than decreased pH on the development, feeding and metabolism of northern shrimp (*Pandalus borealis*) larvae. *Mar. Biol.* **160**, 2037–2048.
- Arnold, K. E., Findlay, H. S., Spicer, J. I., Daniels, C. L. and Boothroyd, D.** (2009). Effect of CO₂-related acidification on aspects of the larval development of the European lobster, *Homarus gammarus* (L.). *Biogeosciences*. **6**, 1747–1754.
- Atamanchuk, D., Tengberg, A., Aleynik, D., Fietzek, P., Shitashima, K., Lichtschlag, A., Hall, P. O. J. and Stahl, H.** (2015). Detection of CO₂ leakage from a simulated sub-seabed storage site using three different types of pCO₂ sensors. *Int. J. Greenh. Gas Control* **38**, 121–134.
- Baldwin, J., Gupta, A., Iglesias, X.** (1999) Scaling of anaerobic energy metabolism during tail flipping behaviour in the freshwater crayfish, *Cherax destructor*. *Mar. Freshwater Res.* **50**, 183-187.
- Bannister, R. C. A., and J. T. Addison.** (1998). Enhancing lobster stocks: A review of recent European methods, results, and future prospects. *Bull. Mar. Sci.* **62** (2), 369-387.
- Barnhart M. C., McMahon, B. R.** (1988) Depression of aerobic metabolism and intracellular pH by hypercapnia in land snails, *Otala lactea*. *J. Exp. Biol.* **138**, 289–299

- Basallote, M. D., Rodríguez-Romero, A., Blasco, J., DelValls, A. and Riba, I.** (2012). Lethal effects on different marine organisms, associated with sediment-seawater acidification deriving from CO₂ leakage. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **19**, 2550–2560.
- Bechmann, R. K., Taban, I. C., Westerlund, S., Godal, B. F., Arnberg, M., Vingen, S., Ingvarsdottir, A., et al.** (2011). Effects of ocean acidification on early life stages of shrimp (*Pandalus borealis*) and mussel (*Mytilus edulis*). *J. Tox. Env. Health.* **74**, 424–438.
- Beniash, E., Ivanina, A., Lieb, N. S., Kurochkin, I. and Sokolova, I. M.** (2010). Elevated level of carbon dioxide affects metabolism and shell formation in oysters *Crassostrea virginica*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **419**, 95–108.
- Bennett, K. and Hiebert, L.** (2009). Complex life cycles of common marine invertebrates. *Science Activities : Classroom Projects and Curriculum Ideas.* **46** (4), 18-25.
- Blackford J, Jones N, Proctor R, Holt J, Widdicombe S, Lowe D, Rees A** (2009) An initial assessment of the potential environmental impact of CO₂ escape from marine carbon capture and storage systems. *Proc Inst. Mech. Eng. A. J. Power Energy.* **223**, 269–280
- Blackford, J., Bull, J. M., Cevatoglu, M., Connelly, D., Hauton, C., James, R. H., Lichtschlag, A., Stahl, H., Widdicombe, S. and Wright, I. C.** (2015). Marine baseline and monitoring strategies for carbon dioxide capture and storage (CCS). *Int. J. Greenh. Gas Control* **38**, 221–229.
- Blackford, J., Stahl, H., Bull, J.M., Bergès, B.J.P., Cevatoglu, M., Lichtschlag, A., Connelly, D., James, R.H., Kita, J., Long, D., Naylor, M., Shitashima, K., Smith, D., Taylor, P., Wright, I., Akhurst, M., Chen, B., Gernon, T.M., Hauton, C., Hayashi, M., Kaieda, H., Leighton, T.G., Sato, T., Sayer, M.D.J., Suzumura, M., Tait, K., Vardy, M.E., White, P.R., Widdicombe, S.** (2014). Detection and impacts of leakage from sub-seafloor carbon dioxide storage. *Nat. Clim. Change.*
<http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2381>
- Blackford, J., Stahl, H., Kita, J. and Sato, T.** (2015). Preface to the QICS special issue. *Int. J. Greenh. Gas Control* **38**, 1.
- Blackford, J.C., Jones, N., Proctor, R., Holt, J.** (2008). Regional scale impacts of distinct CO₂ additions in the North Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **56**, 1461–1468.
- Bliss, D. E.** 1983. *The Biology of Crustacea: Internal Anatomy and Physiological Regulation.* Academic Press, Inc. London Ltd, 24/28 Oval Road, London NW1 7DX. **5**: 1-41.

- Board, B. D. W. M. and Fisheries, C.** (1956). Effects of Temperature, Salinity and Oxygen on the Survival of the American Lobster. **13**, 247–272.
- Booth, B. Y. C. E. and McMahon, B. R.** (1985). Short Communication Lactate Dynamics During Locomotor Activity in the Blue Crab , *Callinectes Sapid Us*. **465**, 461–465.
- Booth, C. E., McMahon, B. R., De Fur, P. L. and Wilkes, P. R. H.** (1984). Acid-base regulation during exercise and recovery in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Respir. Physiol.* **58**, 359–376.
- Butler, M. J. and Herrnkind, W. F.** (1997). A test of recruitment limitation and the potential for artificial enhancement of spiny lobster (*Panulirus argus*) populations in Florida. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**, 452–463.
- Byrne, M.** (2011). Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. *Oceanogr. Mar. Biol. An Annu. Rev.* **49**, 1–42.
- Byrne, M. and Przeslawki, R.** (2013). Multistressor impacts of warming and acidification on marine invertebrates' life histories. *Integr. Comp. Biol.* **53** (4), 582-596.
- Cai, W.-J., Hu, X., Huang, W.-J., Murrell, M. C., Lehrter, J. C., Lohrenz, S. E., Chou, W.-C., Zhai, W., Hollibaugh, J. T., and Wang, Y.** Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication. *Nat. Geosci.* **4**, 766–770, 2011.
- Caldeira K, Wickett ME** (2003) Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*. 425:365
- Caldeira, K. and Wickett, M. E.** (2005). Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *J. Geophys. Res. Ocean.* **110**
- Calosi P, Turner LM, Hawkins M, Bertolini C, Nightingale G, True- bano M, Spicer JI** (2013) Multiple physiological responses to multiple environmental challenges: an individual response. *Integr. Comp. Biol.* 53:660–670
- Calosi, P., Melatunan, S., Turner, L. M., Artoli, Y., Daividsen, R. L., Byrne, J. J., et al.** (2017). Regional adaptation defines sensitivity to future ocean acidification. *Nat. Comm.* **8**, doi : 10.1038/ncomms13994
- Carter, H. a, Ceballos-Osuna, L., Miller, N. a and Stillman, J. H.** (2013). Impact of ocean acidification on metabolism and energetics during early life stages of the intertidal porcelain crab *Petrolisthes cinctipes*. *J. Exp. Biol.* **216**, 1412–22.

- Castro, K. M., J. S. Cobb, R. A. Wahle, and J. Catena.** 2001. Habitat addition and stock enhancement for American lobster, *Homarus americanus*. *Mar. Freshw. Res.* **52**, 1253-1261.
- Ceballos-Osuna, L., Carter, H. A., Miller, N. A. and Stillman, J. H.** (2013). Effects of ocean acidification on early life-history stages of the intertidal porcelain crab *Petrolisthes cinctipes*. *J. Exp. Biol.* **216**, 1405–1411.
- Cheung, W. W. L., Lam, V. W. Y., Sarmiento, J. L., Kearney, K., Watson, R., Zeller, D., Pauly, D.** (2010). Large scale redistribution of maximum fisheries catch potential in the global ocean under climate change. *Glob. Change Biol.* **16**, 24-35.
- Christen, N., Calosi, P., McNeill, C. L. & Widdicombe, S.** (2013). Structural and functional vulnerability to elevated pCO₂ in marine benthic communities. *Mar. Biol.* **160**, 2113–2128.
- Coffen-Smout, S., Shervill, D., Sam, D., Denton, C. and Tremblay, J.** (2013). Mapping Inshore Lobster Landings and Fishing Effort on a Maritimes Region Modified Grid System. **3024**, 1–33.
- Coffey, W. D., Nardone, J. A., Yarram, A., Long, W. C., Swiney, K. M., Foy, R. J. and Dickinson, G. H.** (2017). Ocean acidification leads to altered micromechanical properties of the mineralized cuticle in juvenile red and blue king crabs. **495**, 1–12.
- Comeau, M. J., M. Hanson, M. Mallet, and F. Savoie.** 2004. *Stock status of the American lobster, Homarus americanus, in the Lobster Fishing Area 25. Department of Fisheries and Oceans Canadian Scientific Advisory Committee.* Research document 2004/054. 70 pp.
- Comeau, M., Hanson, J. M., Rondeau, A., Mallet, M., & Chassé, J.** (2008). *Framework and assessment for American lobster, Homarus americanus, fisheries in the Southern Gulf of St. Lawrence: LFA 23, 24, 25, 26A and 26B. Canadian Atlantic Fisheries Science Advisory Secretariat.* Research Document 2008/054, 115p.
- Cooley, S. R. and Doney, S. C.** (2009). Anticipating ocean acidification's economic consequences for commercial fisheries. *Environ. Res. Lett.* **4**, 24007.
- Cornwall, C. E., Hepburn, C. D., McGraw, C. M., Currie, K. I., Pilditch, C. A., Hunter, K. A., Boyd, P. W. and Hurd, C. L.** (2013). Diurnal fluctuations in seawater pH influence the response of a calcifying macroalga to ocean acidification. *Proc. R. Soc. B. Biol. Sci.* **280**.
- Daoud, D., Chabot, D., Audet, C., & Lambert, Y.** (2007). Temperature induced variation in oxygen consumption of juvenile and adult stages of the northern shrimp, *Pandalus borealis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **347**(1-2), 30-40.

- Daoud, D., Fairchild, W. L., Comeau, M., Bruneau, B., Mallet, M. D., Jackman, P. M., Benhalima, K., Berillis, P. and Mente, E.** (2014). Impact of an Acute Sublethal Exposure of Endosulfan on Early Juvenile Lobster (*Homarus americanus*). *Aquat. Sci. Technol.* **2**, 14.
- Daoud, D., Lambert, Y., Audet, C. and Chabot, D.** (2010). Size and temperature-dependent variations in intermolt duration and size increment at molt of Northern Shrimp, *Pandalus borealis*. *Mar. Biol.* **157**, 2655–2666.
- Dashfield, S. L., Somerfield, P. J., Widdicombe, S., Austen, M. C. and Nimmo, M.** (2008). Impacts of ocean acidification and burrowing urchins on within-sediment pH profiles and subtidal nematode communities. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **365**, 46–52.
- deYoung, B., Peterman, R.M., Dobell, A.R., Pinkerton, E., Breton, Y., Charles, A.T., Fogarty, M.J., Munro, G.R., and Taggart, C.T.** 1999. Canadian Marine Fisheries
- Diaz, R. J. & Rosenberg, R.** 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*. 321, 926–929.
- Doney, S. C.** (2010). The growing human footprint on coastal and open-ocean biogeochemistry. *Science*. **328**, 1512–1516.
- Doney, S. C., Fabry, V. J., Feely, R. A. and Kleypas, J. A.** (2009). Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Ann. Rev. Mar. Sci.* **1**, 169–192.
- Dong, Y. and Somero, G. N.** (2009). Temperature adaptation of cytosolic malate dehydrogenases of limpets (genus *Lottia*): differences in stability and function due to minor changes in sequence correlate with biogeographic and vertical distributions. *J. Exp. Biol.* **212**, 169–177.
- Donohue P. J. C., Calosi, P., Bates, A. H., Laverock, B., Rastrick, S., Mark, F., C., Strobel, A., Widdicombe, S.** (2012). Impact of exposure to elevated pCO₂ on the physiology and behaviour of an important ecosystem engineer, the burrowing shrimp *Upogebia deltaura*. *Aquat. Biol.* **15**, 73–86.
- Drupp, P., De Carlo, E. H., Mackenzie, F. T., Bienfang, P., and Sabine, C. L.** 2011. Nutrient inputs, phytoplankton response, and CO₂ variations in a semi-enclosed subtropical embayment, Kaneohe Bay, Hawaii, *Aquat. Geochem.*, **17**, 473–498.
- Duarte, C., I. Hendriks, T. Moore, Y. Olsen, A. Steckbauer, L. Ramajo, J. Carstensen, J. Trotter, and M. McCulloch.** 2013. Is ocean acidification an open-ocean syndrome?

Understanding anthropogenic impacts on seawater pH. *Estuaries and Coasts*. **36**, 221-236

- Duarte, C., Navarro, J. M., Acuña, K., Torres, R., Manríquez, P. H., Lardies, M. A., Vargas, C. A., Lagos, N. A. and Aguilera, V.** (2014). Combined effects of temperature and ocean acidification on the juvenile individuals of the mussel *Mytilus chilensis*. *J. Sea Res.* **85**, 308–314.
- Dupont, S., Dorey, N., Stumpp, M., Melzner, F., and Thorndyke, M.** 2013. Long-term and trans-life-cycle effects of exposure to ocean acidification in the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Mar. Biol.* **160**: 1835–1843.
- Eggleston, D.B., Armstrong, D.A., Elis, W.E., Patton, W.S.,** 1998c. Estuarine fronts as conduits for larval transport, hydrodynamics and spatial distribution of Dungeness crab postlarvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **164**, 73–82.
- Eggleston, D.B., Etherington, L.L., Elis, W.E.,** 1998b. Organism response to habitat patchiness, species and habitat-dependent recruitment of decapod crustaceans. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **223**, 111–132.
- Eggleston, D.B., Lipcius, R.N., Marshall, L.S., Ratchford, S.G.,** 1998a. Spatiotemporal variation in postlarval recruitment of the Caribbean spiny lobster in the central Bahamas, Lunar and seasonal periodicity, spatial coherence, and wind forcing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **174**, 33–49.
- Ekkstrom, J. A., Suatoni, L., Cooley, S. R., Pendleton, L. H., Waldbusser, G. G., Cinner, J. E., Ritter, J., Langdon, C., van Hooidonk, R., Gledhill, D., et al.,.** (2015). Vulnerability and adaptation of US shellfisheries to ocean acidification. *Nat. Clim. Chang.* **5**, 207–214.
- England, W.R., Baldwin, J.** 1983. Anaerobic energy metabolism in the tail musculature of the Australian yabby, *Cherax destructor* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae): role of phosphagens and anaerobic glycolysis during escape behavior. *Physiol. Zool.* **56**, 614–622.
- Evans, T. G., Chan, F., Menge, B. A. and Hofmann, G. E.** (2013). Transcriptomic responses to ocean acidification in larval sea urchins from a naturally variable pH environment. *Mol. Ecol.* **22**, 1609–1625.
- Ewing, R.D., and J.S. Clegg.** (1969). Lactate dehydrogenase activity and anaerobic metabolism during embryonic development in *Artemia salina*. *Comp. Biochem. Physiol.* **32** (2), 297-307.
- Fabry, V. J., McClintock, J. B., Mathis, J. T., and Grebmeier, J. M.** (2009). Ocean

acidification at high latitudes: the bellweather. *Oceanography*. **22**: 160–171.

Factor, J. (1995) *In* Biology of the Lobster, 1st Edition : *Homarus americanus*. ISBN : 9780122475702. Pp. 528.

Falkenberg, L. J., and Tubb, A. (2017). Economic effects of ocean acidification : Publication patterns and directions for future research. *Roy Sweedish Acad. Sci.* doi : 10.1007//s13280-017-0895-9

Fernandes, J. A., Cheung, W. W. L., Jennings, S., Butenschon, M., De Mora, L., Frolicher, T. L., Barange, M. and Grant, A. (2013). Modelling the effects of climate change on the distribution and production of marine fishes: Accounting for trophic interactions in a dynamic bioclimate envelope model. *Glob. Chang. Biol.* **19**, 2596–2607.

Findlay HS, Kendall MA, Spicer JI, Widdicombe S (2010a) Relative influences of ocean acidification and temperature on intertidal barnacle post-larvae at the northern edge of their geographic distribution. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **8**, 675–682

Findlay HS, Kendall MA, Spicer JI, Widdicombe S (2010b) Post-larval development of two intertidal barnacles at elevated CO₂ and temperature. *Mar. Biol.* **157**, 725–735

Findlay, H. S., Wood, H. L., Kendall, M. a, Spicer, J. I., Twitchett, R. J. and Widdicombe, S. (2011). Comparing the impact of high CO₂ on calcium carbonate structures in different marine organisms. *Mar. Biol. Res.* **7**, 565–575.

Francis Pan, T. C., Applebaum, S. L., Manahan, D. T. 2015. Experimental ocean acidification alters the allocation of metabolic energy. *PNAS*. **112** (15), 4696-4701.

Gattuso, J. P., Frankignoulle, M., Wollast, R. (1998). Carbon and carbonate metabolism in coastal and aquatic ecosystems. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **29**, 405-434.

Gattuso, J. P., Mach, K. J., Morgan, G. (2013). Ocean acidification and its impact impacts : an expert survey. *Climate Change*. **117** (4), 725-738.

Gattuso, J.-P. (2015). Acidification des océans. *Ocean. Clim.* **1**, 28–30.

Gilbert, D., Rabalais, N. N., Díaz, R. J. & Zhang, J. (2010). Evidence for greater oxygen decline rates in the coastal ocean than in the open ocean. *Biogeosciences*. **7**, 2283–2296.

Gosselin, L. A. and Qian, P. Y. (1997). Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **146**, 265–282.

- Green, B. S., Gardner, C., Hochmuth, J. D. and Linnane, A.** (2014). Environmental effects on fished lobsters and crabs. *Rev. Fish Biol. Fish.* **24**, 613–638.
- Guppy, M. and Withers, P.** 1999. Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev.* **74**: 1–40.
- Hale, R., Calosi, P., McNeill, L., Mieszkowska, N. and Widdicombe, S.** (2011). Predicted levels of future ocean acidification and temperature rise could alter community structure and biodiversity in marine benthic communities. *Oikos*. **120**, 661–674.
- Harley, C. D. G., Hughes, A. R., Hultgren, K. M., Miner, B. G., Sorte, C. J. B., Thornber, C. S., Rodriguez, L. F., Tomanek, L. and Williams, S. L.** (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecol. Lett.* **9**, 228–241.
- Harms, L., Frickenhaus, S., Schiffer, M., Marks, F. C., Storch, D., Held, C., Pörtner, H.-O., Lucassen, M.** (2014). Gene expression profiling in gills of the great spider crab *Hyas araneus* in response to ocean acidification and warming. *BMC Genomics*. **15**: 789.
- Hernroth, B., Krång, A. S. and Baden, S.** (2015). Bacteriostatic suppression in Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) exposed to manganese or hypoxia under pressure of ocean acidification. *Aquat. Toxicol.* **159**, 217–224.
- Hoffman, G. E., Barry, J. P., Edmunds, P. J., Gates, R. D., Hutchins, D. A., Klinger, T., Sewel, M. A.** 2010. The effect of ocean acidification on calcifying organisms in marine ecosystems: an organism-to-ecosystem perspective. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **41**, 127–147.
- Hunt, H. L. and Scheibling, R. E.** (1997). Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **155**, 269–301.
- in a Changing and Uncertain World. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 129–199.
- Incze, L.S., Wahle, R.A.,** 1991. Recruitment from pelagic to early benthic phase in lobsters *Homarus americanus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **79**, 77–87.
- Incze, L.S., Wahle, R.A., Cobb, J.S.,** 1997. Quantitative relationships between postlarval supply and benthic recruitment in the American lobster, *Homarus americanus*. *Fish. Bull.* **48**, 729–743.
- Incze, L.S., Wahle, R.A., Palma, A.T.,** 2000. Advection and settlement rates in a benthic invertebrate, recruitment to first benthic stage in *Homarus americanus*. *ICES J. Mar. Sci.* **57**, 430–437.
- Ishimatsu, A., Kikkawa, T., Hayashi, M., Lee, K.-S. and Kita, J.** (2004). Effects of CO₂ on Marine Fish: Larvae and Adults. *J. Oceanogr.* **60**, 731–741.

- Jablonski D., Lutz R.A.** 1983. Larval ecology of marine benthic invertebrates: paleobiological implications. *Biol. Rev.* **58**:21-89.
- Jansen, H., Zeebe, R. E. and Wolf-Gladrow, D. A.** (2002). Modeling the dissolution of settling CaCO_3 in the ocean. *Global Biogeochem. Cycles*. **16**, 11-1-11-16.
- Jentsch A, Kreyling J, Beierkuhnlein C.** (2007) A new generation of climate change experiments: Events, not trends. *Front. Ecol. Environ.* **5**: 65–374. doi: [http://dx.doi.org/10.1890/1540-9295\(2007\)5\[365:ANGOCE\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1890/1540-9295(2007)5[365:ANGOCE]2.0.CO;2).
- Johansson, M., leong, K.-W., Trobro, S., Strazewski, P., Åqvist, J., Pavlov, M. Y. and Ehrenberg, M.** (2011). pH-sensitivity of the ribosomal peptidyl transfer reaction dependent on the identity of the A-site aminoacyl-tRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**, 79–84.
- Kaplan, L. A., and Pesce, A. J. (Eds.).** (1996). Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation. Mosby-Year Book, Inc., Missouri, pp. 609-610.
- Keppel, E. A., Scrosati, R. A. and Courtenay, S. C.** (2012). Ocean acidification decreases growth and development in American lobster (*Homarus americanus*) larvae. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* **44**, 61–66.
- Kirubakaran, R.** (2010). Announcements International Conference : “ Recent Advances in Lobster Biology, Aquaculture and Regional Workshop : the American Lobster Settlement Index At 20 Years. *Sci. Technol.* **22**, 1–26.
- Kita, J., Stahl, H., Hayashi, M., Green, T., Watanabe, Y. and Widdicombe, S.** (2015). Benthic megafauna and CO_2 bubble dynamics observed by underwater photography during a controlled sub-seabed release of CO_2 . *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 202–209.
- Kleypas, J.** (1999). Geochemical Consequences of Increased Atmospheric Carbon Dioxide on Coral Reefs. *Science*. **284** (80), 118–120.
- Kleypas, J. and Langdon, C.** (2006). Coral reefs and changing seawater carbonate chemistry. *Coral Reefs Clim. Chang. Sci. Manag.* 73–110.
- Koeller, P., M. Covey, and M. King.** 2009. An Assessment of the Eastern Scotian Shelf Shrimp Stock and Fishery in 2008 with an Outlook for 2009. *DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res.*
- Kröeker, K. J., Kordas, R. L., Crim, R. N. and Singh, G. G.** (2010). Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecol. Lett.* **13**, 1419–1434.

- Krohn, R.I., G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Gartner, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson, D.C. Klenk.** (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.* **150** (1): 76–85
- Kurihara, H.** (2008). Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **373**, 275–284.
- Laffoley, D. d'A and Baxter, J. M.** (2015). Tackling Ocean Acidification- Improving prospects by planning ahead. **1**, 16.
- Lane, N.** (2011). Mitonuclear match: optimizing fitness and fertility over generations drives ageing withing generations. *Bioessays*. **33**: 860-869.
- Lannig, G., Eilers, S., Pörtner, H. O., Sokolova, I. M. and Bock, C.** (2010). Impact of ocean acidification on energy metabolism of oyster, *Crassostrea gigas* - Changes in metabolic pathways and thermal response. *Mar. Drugs*. **8**, 2318–2339.
- Lavalli, KL, and Bradshaw, DE.** 1986. Burrows protect postlarval lobsters, *Homarus americanus*, from predation by the non-burrowing cunner, *Tautogolabrus adspersus*, but not from the burrowing mud crab, *Neopanope texani*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **32**, 13-16.
- Leo, E., Kunz, K. L., Schmidt, M., Storch, D., Pörtner, H.-O. and Mark, F. C.** (2017). Mitochondrial acclimation potential to ocean acidification and warming of Polar cod (*Boreogadus saida*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Front. Zool.* **14**, 21.
- Li, F., Wu, Y., Hutchins, D. A., Fu, F. and Gao, K.** (2016). Physiological responses of coastal and oceanic diatoms to diurnal fluctuations in seawater carbonate chemistry under two CO₂ concentrations. *Biogeosciences*. **13**, 6247–6259.
- Lichtschlag, A., James, R. H., Stahl, H. and Connelly, D.** (2015). Effect of a controlled sub-seabed release of CO₂ on the biogeochemistry of shallow marine sediments, their pore waters, and the overlying water column. *Int. J. Greenh. Gas Control*. **38**, 80–92.
- Lischka, S., Bodenbender, J., Boxhammer, T. and Riebesell, U.** (2011). Impact of ocean acidification and elevated temperatures on early juveniles of the polar shelled pteropod *Limacina helicina*: Mortality, shell degradation, and shell growth. *Biogeosciences*. **8**, 919–932.
- Long, W. C., Van Sant, S. B., Swiney, K. M. and Foy, R. J.** (2016). Survival, growth, and morphology of blue king crabs: effect of ocean acidification decreases with exposure time. *ICES J. Mar. Sci. J. du Cons.* **74**, 197.

- Long, W. C., Van Sant, S. B., Swiney, K. M., Foy, R. J.** (2017). Survival, growth, and morphology of blue king crabs: effect of ocean acidification decreases with exposure time. *ICES J. Mar. Sci.* **74**, 1033-1041.
- Mabarday, R. A.** (2013). Exploring Perceptions and Experiences of the U.S. West Coast Shellfish Industry Dealing with Ocean Acidification. Master of Science thesis in Marine Resource Management.
- Mabon, L., Shackley, S., Blackford, J. C., Stahl, H. and Miller, A.** (2015). Local perceptions of the QICS experimental offshore CO₂ release: Results from social science research. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 18–25.
- Maeda, Y., Shitashima, K. and Sakamoto, A.** (2015). Mapping observations using AUV and numerical simulations of leaked CO₂ diffusion in sub-seabed CO₂ release experiment at Ardmucknish Bay. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 143–152.
- Marshall, D. J., Krug, P. J., Kupriyanova, E. K., Byrne, M., Emlet, R. B.** (2012). The biogeography of marine invertebrate life histories. *Ann. Rev. Ecol. Evol. System.* **43**, 97-114
- Martin, S., Rodolfo-Metalpa, R., Ransome, E., Rowley, S., Buia, M. C., Gattuso, J. P. and Hall-Spencer, J.** (2008). Effects of naturally acidified seawater on seagrass calcareous epibionts. *Biol. Lett.* **4**, 689–692.
- Mathis, J. T., Cooley, S. R., Lucey, N., Colt, S., Ekstrom, J., Hurst, T., Hauri, C., et al.** (2015). Ocean acidification risk assessment for Alaska's fishery sector. *Progress in Oceanography*, **136**: 71–91.
- Matson, P. G., Yu, P. C., Sewel, M. A., Hofmann, G. E.** (2012). Development under elevated pCO₂ conditions does not affect lipid utilization and protein content in early life-history stages of the purple sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Biol. Bull.* **223**: 312-327.
- McDonald, M. R., McClintock, J. B., Amsler, C. D., Rittschof, D., Angus, R. A., Orihuela, B. and Lutostanski, K.** (2009). Effects of ocean acidification over the life history of the barnacle *Amphibalanus amphitrite*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **385**, 179–187.
- McLean, Erin Lyn**, "The Response of Molting *Homarus Americanus* to Ocean Acidification Projections" (2016). Open Access Master's Theses. Paper 824.
- Melatunan S, Calosi P, Rundle SD, Moody AJ, Widdicombe S.** (2011). Exposure to elevated temperature and pCO₂ reduces respiration rate and energy status in the periwinkle *Littorina littorea*. *Physiol. Biochem. Zool.* **84**, 583–594

- Melzner F, Gutowska MA, Langenbuch M, Dupont S, Lucassen M, et al.,.** (2009). Physiological basis for high CO₂ tolerance in marine ectothermic animals: pre-adaptation through lifestyle and ontogeny? *Biogeosciences*. **6**, 2313–2331.
- Merino, G., Barange, M., Fernandes, J. A., Mullon, C., Cheung, W., Trenkel, V. and Lam, V.** (2014). Estimating the economic loss of recent North Atlantic fisheries management. *Prog. Oceanogr.* **129**, 314–323.
- Metzger, R., Sartoris, F. J., Langenbuch, M. and Pörtner, H. O.** (2007). Influence of elevated CO₂ concentrations on thermal tolerance of the edible crab *Cancer pagurus*. *J. Therm. Biol.* **32**, 144–151.
- Michaelidis, B., Ouzounis, C., Paleras, A. and Pörtner, H. O.** (2005). Effects of long-term moderate hypercapnia on acid-base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **293**, 109–118.
- Miles, H., Widdicombe, S., Spicer, J. I. and Hall-Spencer, J.** (2007). Effects of anthropogenic seawater acidification on acid-base balance in the sea urchin, *Psammechinus miliaris*. *Mar. Pollut. Bull.* **54**, 89–96.
- Mills, K. E., Pershing, A. and Brown, C.** (2013). Fisheries management in a changing climate: Lessons from the 2012 ocean heat wave in the Northwest Atlantic. *Oceanography* **26**, 191–195.
- Moran, N. A.** (1994). Adaptation and Constraint in the Complex Life Cycles of Animals *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **25**, 573–600.
- Mori, C., Sato, T., Kano, Y., Oyama, H., Aleynik, D., Tsumune, D. and Maeda, Y.** (2015). Numerical study of the fate of CO₂ purposefully injected into the sediment and seeping from seafloor in Ardmucknish Bay. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 153–161.
- Narita, Daiju; Rehdanz, Katrin; Tol, Richard S. J.** (2011). Economic costs of ocean acidification: A look into the impacts on shellfish production, ESRI working paper, No. 391
- Noisette, F., Egilsdottir, H., Davoult, D., and Martin, S.** (2013). Physiological responses of three temperate coralline algae from contrasting habitats to near-future ocean acidification. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **448**, 179–187.
- O'Donnell, M. J., Hammond, L. M. and Hofmann, G. E.** (2009). Predicted impact of ocean acidification on a marine invertebrate: Elevated CO₂ alters response to thermal stress in sea urchin larvae. *Mar. Biol.* **156**, 439–446.

- Onofri, L., and Pald, N.** (2017). Ocean acidification and the economic impacts on the molluscs and crustaceans markets : a worldwide application. *Int. J. Oceanogr. Aquac.* **1** (1).
- Orr, J. C., Fabry, V. J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S. C., Feely, R. A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., and Joos, F., et al.** (2005). Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*. **437**, 681–686.
- Paganini, A. W., Miller, N. and Stillman, J. H.** (2014). Temperature and acidification variability reduce physiological performance in the intertidal zone porcelain crab, *Petrolisthes cinctipes*. *J. Exp. Biol.* **217**, 3974–80.
- Page, T. M., Worthington, S., Calosi, P. and Stillman, J. H.** (2016). Effects of elevated $p\text{CO}_2$ on crab survival and exoskeleton composition depend on shell function and species distribution: a comparative analysis of carapace and claw mineralogy across four porcelain crab species from different habitats. *ICES J. Mar. Sci. J. du Cons.* **74**, 196.
- Pan, T.-C. F., Applebaum, S. L. and Manahan, D. T.** (2015). Experimental ocean acidification alters the allocation of metabolic energy. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 4696–4701.
- Pechenik, J. A.** 1999. On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **177**:269-297.
- Pespeni, M. H., Sanford, E., Gaylord, B., Hill, T. M., Hosfelt, J. D., Jaris, H. K., LaVigne, M., Lenz, E. A., Russell, A. D., Young, M. K., et al.,.** (2013). Evolutionary change during experimental ocean acidification. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 6937–6942.
- Pezzack, D. S.** (1992). The inshore offshore lobster issue in southwestern Nova Scotia. *Can. Manuscr. Rep. Fish. Aquatic Sci.*
- Phelps, J. J. C., Blackford, J. C., Holt, J. T. and Polton, J. A.** (2015). Modelling large-scale CO₂ leakages in the North Sea. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 210–220.
- Pistevos, J. C. A., Calosi, P., Widdicombe, S. and Bishop, J. D. D.** (2011). Will variation among genetic individuals influence species responses to global climate change? *Oikos*. **120**, 675–689.
- Pörtner H.-O., Farrell A. P.** (2008) Physiology and climate change. *Science*. **322**: 690–692.

- Pörtner, H. O.** (2008). Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: A physiologist's view. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **373**, 203–217.
- Pörtner, H.-O.** (2001) Climate change and temperature-dependent biogeography: oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften.* **88**, 137–146
- Przeslawski, R., M. Byrne, and C. Mellin.** (2014). A review and meta-analysis of the effects of multiple abiotic stressors on marine embryos and larvae. *Glob. Change Biol.*
- Qiu, Y. and Reed, D.** (2014). Gas Chromatography in Metabolomics Study. *Adv. gas Chromatogr.* 83–101.
- Queiros, A. M., Taylor, P., Cowles, A., Reynolds, A., Widdicombe, S. and Stahl, H.** (2015). Optical assessment of impact and recovery of sedimentary pH profiles in ocean acidification and carbon capture and storage research. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 110–120.
- Quevauviller, P.** (1995). *In* Quality Assurance in Environmental Monitoring: Sampling and Sampling Pretreatment. Weinheim, Republic of Germany. Pp. 188
- Quinn, B., Rochette, R.** (2015). Potential effect of variation in water temperature on development time of American lobster larvae. *ICES J. Mar. Sci.* **72** (1), 79-90.
- Raimondi, P.T.,** 1990. Patterns, mechanisms, consequences of variability in settlement and recruitment of an intertidal barnacle. *Ecol. Monogr.* **60**, 283–309.
- Rastelli, E., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Amaro, T., Greco, S., Lo Martire, M., Carugati, L., Queirós, A. M., Widdicombe, S. and Danovaro, R.** (2016). CO₂ leakage from carbon dioxide capture and storage (CCS) systems affects organic matter cycling in surface marine sediments. *Mar. Environ. Res.* **122**, 158–168.
- Rato, L. D., Novais, S. C., Lemos, M. F. L., Alves, L. M. F., Leandro, S. M.** (2017). *Homarus gammarus* (Crustacea: Decapoda) larvae under an ocean acidification scenario: responses across different levels of biological organization. *Comp. Biochem. Physiol. Part C.* **203**: 29-38.
- Reipschlager A., Pörtner, H.-O.** (1996) Metabolic depression during environmental stress: the role of extracellular versus intracellular pH in *Sipunculus nudus*. *J. Exp. Biol.* **199**, 1801–1807
- Ries, J. B.** (2011). Skeletal mineralogy in a high-CO₂ world. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **403**, 54–64.

- Ries, J. B., Cohen, A. L. and McCorkle, D. C.** (2009). Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology*. **37**, 1131–1134.
- Ristow, M., and Schmeisser, K.** (2014). Mitohormesis: promoting health and lifespan by increased levels of reactive oxygen species (ROS). *Dose-Response*. **12**: 288-341.
- Robles-Romo, A., Zenteno-Savín, T. and Racotta, I. S.** (2016). Bioenergetic status and oxidative stress during escape response until exhaustion in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **478**, 16–23.
- Rubal, M., Veiga, P., Cacabelos, E., Moreira, J. & Sousa-Pinto, I.** (2013). Increasing sea surface temperature and range shifts of intertidal gastropods along the Iberian Peninsula. *J. Sea Res.* **77**, 1–10.
- Sanders, M. B., Bean, T. P., Hutchinson, T. H., Le Quesne, W. J. F.** (2013) Juvenile king scallop, *Pecten maximus*, is potentially tolerant to low levels of ocean acidification when food is unrestricted. *PLoS ONE*. **8**(9).
- Schmitt, R.J., Holbrook, S.J.,** 1999. Settlement and recruitment of three damselfish species, larval delivery and competition for shelter space. *Oecologia*. **118**, 76–86.
- Schulz, T. J., Zarse, K., Voigt, A., Urban, N., Birringer, M., Ristow, M.** (2007). Glucose restriction extends *Caenorhabditis elegans* life span by inducing mitochondrial respiration and increasing oxidative stress. *Cell Metab.* **6**: 280-293.
- Shackell, N. L., Ricard, D., and Stortini, C.** (2014). Thermal habitat index of many Northwest Atlantic temperate species stays neutral under warming projected for 2030 but changes radically by 2060. *PLoS ONE*. **9**.
- Shitashima, K., Maeda, Y. and Sakamoto, A.** (2015). Detection and monitoring of leaked CO₂ through sediment, water column and atmosphere in a sub-seabed CCS experiment. *Int. J. Greenh. Gas Control*. **38**, 135–142.
- Small, D. P., Calosi, P., Boothroyd, D., Widdicombe Steve and Spicer, J. I.** (2015). Stage-specific changes in physiological and life-history responses to elevated temperature and pCO₂ during the larval development of the European lobster *Homarus gammarus* (L.). *Physiol. Biochem. Zool.* **88**, 494–507.
- Small, D. P., Calosi, P., Boothroyd, D., Widdicombe, S. and Spicer, J. I.** (2016). The sensitivity of the early benthic juvenile stage of the European lobster *Homarus gammarus* (L.) to elevated pCO₂ and temperature. *Mar. Biol.* **163**, 1–12.

- Small, D., Calosi, P., White, D., Spicer, J. I. and Widdicombe, S.** (2010). Impact of medium-term exposure to CO₂ enriched seawater on the physiological functions of the velvet swimming crab *Necora puber*. *Aquat. Biol.* **10**, 11–21.
- Society, T. C.** (2017). Behavior and Substrate Selection during Larval Settling in the Lobster *Homarus americanus*. *J. Crustacean Biol.* **2** (1), 59-69.
- Speakman, J.R., and McQueenie, J.** (1996). Limits to sustained metabolic rate: The link between food intake, basal metabolic rate, and morphology in reproducing mice, *Mus musculus*. *Physiol. Zool.* **69** (4), 746-769.
- Spicer, J. I. and Eriksson, S. P.** (2003). Does the development of respiratory regulation always accompany the transition from pelagic larvae to benthic fossorial postlarvae in the Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L.)? *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **295**, 219–243.
- Spicer, J. I., and Gaston, K.** (1999). In *Physiological Diversity: Ecological Implications*.
- Spicer, J. I., Raffo, A. and Widdicombe, S.** (2007). Influence of CO₂-related seawater acidification on extracellular acid-base balance in the velvet swimming crab *Necora puber*. *Mar. Biol.* **151**, 1117–1125.
- Steinacher, M., Joos, F., Frölicher, T. L., Plattner, G.-K. and Doney, S. C.** (2008). Imminent ocean acidification projected with the NCAR global coupled carbon cycle-climate model. *Biogeosciences Discuss.* **5**, 4353–4393.
- Steneck, R. S., Wahle, R. A. and Sainte-Marie, B.** (2013). American lobster dynamics in a brave new ocean ¹. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **70**, 1612–1624.
- Steneck, R.S., Wilson, C.J.** (2001). Large-scale and long-term spatial and temporal patterns in demography and landings of the American lobster, *Homarus americanus*, in Maine. *Fish. Bull.* **52**, 1303–1320.
- Stern, M.** (2017). Evidence that a mitochondrial death spiral underlies antagonistic pleiotropy. *Aging Cell.* **16**: 435-443.
- Stevens, B. G.** (2006). *King crab cultivation and stock enhancement in Japan and the United States: a brief history*.
- Stoks, R. and Córdoba-Aguilar, A.** (2012). Evolutionary Ecology of Odonata: A Complex Life Cycle Perspective. *Annu. Rev. Entomol.* **57**, 249–265.

- Stortini, C. H., Chabot, D., Shackell, N. L.** 2017. Marine species in ambient low-oxygen regions subject to double jeopardy impacts of climate change. *Global Change Biology*. **23**, 2284–2296, doi: 10.1111/bcg.13534
- Styf, H. K., Nilsson Skold, H. and Eriksson, S. P.** (2013). Embryonic response to long-term exposure of the marine crustacean *Nephrops norvegicus* to ocean acidification and elevated temperature. *Ecol. Evol.* **3**, 5055–5065.
- Sunday, J. M., Crim, R. N., Harley, C. D. G. and Hart, M. W.** (2011). Quantifying rates of evolutionary adaptation in response to ocean acidification. *PLoS One*. **6**, 1–8.
- Swiney, K. M., Long, W. C. and Foy, R. J.** (2017). Decreased pH and increased temperatures affect young-of-the-year red king crab (*Paralithodes camtschaticus*). *ICES J. Mar. Sci.* **74**, 1191–1200.
- Tait, K., Stahl, H., Taylor, P. and Widdicombe, S.** (2015). Rapid response of the active microbial community to CO₂ exposure from a controlled sub-seabed CO₂ leak in Ardmucknish Bay (Oban, Scotland). *Int. J. Greenh. Gas Control*. **38**, 171–181.
- Tankersley, R. A. and Wieber, M. G.** (2000). Physiological responses of postlarval and juvenile blue crabs *Callinectes sapidus* to hypoxia and anoxia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **194**, 179–191.
- Taylor, P., Lichtschlag, A., Toberman, M., Sayer, M. D. J., Reynolds, A., Sato, T. and Stahl, H.** (2015). Impact and recovery of pH in marine sediments subject to a temporary carbon dioxide leak. *Int. J. Greenh. Gas Control*. **38**, 93–101.
- Taylor, P., Stahl, H., Vardy, M. E., Bull, J. M., Akhurst, M., Hauton, C., James, R. H., Lichtschlag, A., Long, D., Aleynik, D., et al.,.** (2014). A novel sub-seabed CO₂ release experiment informing monitoring and impact assessment for geological carbon storage. *Int. J. Greenh. Gas Control*. **38**, 3–17.
- Theriault, G., Hanlon, J. and Creed, L.** (2013). Report of the Maritime Lobster Panel. 1–106.
- Thibeault M., Blier, P. U., Guderley, H.** (1997). Seasonal variation of muscle metabolic organization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol. Biochem.* **16** (2), 139–155.
- Thomsen J., Casties I., Pansch C., Körtzinger A., Melzner F.** (2013) Food availability outweighs ocean acidification effects in juvenile *Mytilus edulis*: laboratory and field experiments. *Glob. Change Biol.* **19**(4), 1017–1027. doi:10.1111/gcb.12109.

- Thomsen, J., and Melzner, F.** (2010). Moderate seawater acidification does not elicit long-term metabolic depression in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* **157**: 2667-2676.
- Tielens, L.** (1994). Energy generation in helminths. *Parasitol. Today*. **10** (9): 346-352.
- Tomaneck, L., Zuzow, M. J., Ivanina, A. V., Beniash, E., Sokolova, I. M.** (2011). Proteomic response to elevated pCO₂ level in eastern oysters, *Crassostrea virginica*, evidence for oxidative stress. *J. Exp. Biol.* **214**: 1836-1844.
- Tonn, N., Novais, S. C., Silva, C. S. E., Morais, H. A., Correia, J. P. S., Lemos, M. F. L.** (2016). Stress responses of the sea cucumber *Holothuria forskali* during aquaculture handling and transportation. *Mar. Biol. Res.* **12**: 948-957.
- Turley, C., and Gattuso, J. P.** (2012). Future biological ecosystem impact of ocean acidification and their socioeconomic-policy implication. *Current opinion in environmental sustainability*. **4** (3), 278-286.
- Valero.** (2014). Mitochondrial Biogenesis: pharmacological approaches. *Current Pharmaceutical Design*. **20** (35): 5507-5509.
- Wahle, R. A.** (2003). Revealing stock-recruitment relationships in lobsters and crabs: Is experimental ecology the key? *Fish. Res.* **65**, 3–32.
- Wahle, R., Butler, M., Cockcroft, A. & MacDiarmid, A.** 2011. *Homarus americanus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T170009A6705155. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-1.RLTS.T170009A6705155.en>.
- Wahle, R., Steneck, R., Wahle, R. a and Robert, S.** (1991). Recruitment Habitats and Nursery Grounds of the American Lobster *Homarus Americanus* : A Demographic Bottleneck? **69**, 231–243.
- Walker, A. N., Bush, P., Wilson, T., Chang, E. S., Miller, T. I. M. and Horst, M. N.** (2005). Metabolic Effects of Acute Exposure To Methoprene in the American Lobster, *Homarus Americanus*. *J. Shellfish Res.* **24**, 787–794.
- Waller, J. D., Wahle, R. A., McVeigh, H. and Fields, D. M.** (2016). Linking rising pCO₂ and temperature to the larval development and physiology of the American lobster (*Homarus americanus*). *ICES J. Mar. Sci. J. du Cons.* **3**, 154.
- Walsh, P. J. and Milligan, C. L.** (1989). Coordination of metabolism and intracellular acid–base status: ionic regulation and metabolic consequences. *Can. J. Zool.* **67**, 2994–3004.

- Walther, K., Sartoris, F. J. and Pörtner, H. O.** (2011). Impacts of temperature and acidification on larval calcium incorporation of the spider crab *Hyla araneus* from different latitudes (54 N vs. 79 N). *Mar. Biol.* **158**, 2043–2053.
- Watanabe, Y., Tait, K., Gregory, S., Hayashi, M., Shimamoto, A., Stahl, H., Taylor, P., Green, K., Yoshinaga, I., Suwa, Y., et al., .** (2015). Response of the ammonia oxidation activity of microorganisms in surface sediment to a controlled sub-seabed release of CO₂. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 162–170.
- Wheatly, M. G. and Henry, R. P.** (1992). Extracellular and intracellular acid-base regulation in crustaceans : Intracellular and extracellular acid-base regulation in animals. *J. Exp. Zool.* **263**, 127–142.
- Whiteley, N. M.** (2011). Physiological and ecological responses of crustaceans to ocean acidification. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **430**, 257–271.
- Whiteley, N. M., Scott, J. L., Breeze, S. J. and McCann, L.** (2001). Effects of water salinity on acid-base balance in decapod crustaceans. *J. Exp. Biol.* **204**, 1003–1011.
- Widdicombe, S. and Spicer, J. I.** (2008). Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us? *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **366**, 187–197.
- Widdicombe, S., McNeill, C. L., Stahl, H., Taylor, P., Queiros, A. M., Nunes, J. and Tait, K.** (2015). Impact of sub-seabed CO₂ leakage on macrobenthic community structure and diversity. *Int. J. Greenh. Gas Control.* **38**, 182–192.
- Wittmann, A. C. and Pörtner, H.-O.** (2013). Sensitivities of extant animal taxa to ocean acidification. *Nat. Clim. Chang.* **3**, 995–1001.
- Wolfe, K., Worjanyn, S. A. D. and Byrne, M.** (2013). Thermal and pH/pCO₂ fluctuations in the intertidal habitat of *Haliotis erythrogramma*: Effects on post-metamorphic juveniles. *Cah. Biol. Mar.* **54**, 657–666.
- Wood, H. L., Spicer, J. I. and Widdicombe, S.** (2008). Ocean acidification may increase calcification rates, but at a cost. *Proc. Biol. Sci.* **275**, 1767–73.
- Yun, J., and Finkel, T.** (2014). Mitohormesis. *Cell Metabolism.* **19**: 757-766.
- Zeebe, R.E., Wolf-Gladrow, D.A.** (2001). CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes. Third Impression (With Corrections) 2005. Elsevier Ltd, 84 Theobalds Road, London (WC1X 8RR, UK ISBN 0 444 50946 1).

